

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Харківський національний медичний університет

МОДУЛЬ 3

ЗАГАЛЬНА ТА СПЕЦІАЛЬНА ВІРУСОЛОГІЯ

*Методичні вказівки для студентів
II та III курсів медичних факультетів*

Рекомендовано
вченою радою ХНМУ
Протокол № 11 від 15.10.09.

Харків ХНМУ 2009

Модуль 3. Загальна та спеціальна вірусологія: метод. вказ. для студентів II та III курсів мед. ф-ту /Упор.: А.Я. Циганенко, В.В. Мінухін, Н.В. Павленко та ін. – Харків: ХНМУ, 2009 – 120 с.

Упорядники А.Я. Циганенко
В.В. Мінухін
Н.В. Павленко
Л.С. Габишева
В.Л. Ткаченко
Н.І. Коваленко
М.М. Мішина
Л.І. Дністрянська
Ю.А. Мозгова
К.В. Конь
Л.В. Краснікова

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 1

Тема: Основні властивості вірусів і сучасні методи діагностики вірусних захворювань.

Мета: Вивчення властивостей вірусів і методів діагностики захворювань, викликаних вірусами.

Модуль 3. Загальна і спеціальна вірусологія.

Змістовний модуль 15. Загальна вірусологія.

Тема 1. Морфологія і ультраструктура вірусів. Культивування вірусів в курячому ембріоні і організмі лабораторних тварин.

Тема 2. Клітинні культури у вірусології. Методи культивування вірусів в клітинних культурах. Індикація вірусної репродукції.

Тема 3. Серологічні реакції, використовувані у вірусології.

Тема 4. Генетика вірусів. Бактеріофаги. Оцінка мікробного забруднення об'єктів навколишнього середовища.

Актуальність теми. Віруси - особливе царство організмів ультрамікроскопічних розмірів, що володіють тільки одним типом нуклеїнових кислот, позбавлені власних систем синтезу білка і мобілізації енергії і тому є абсолютними внутрішньоклітинними паразитами.

У 1892 р. російський учений-ботаник Д.І. Івановський, вивчаючи мозаїчну хворобу листя тютюну, встановив, що захворювання це викликається найдрібнішими мікроорганізмами, які проходять через дрібнопористі бактерійні фільтри. Ці мікроорганізми отримали назву вірусів (від лат. *virus* - отрута). Великий внесок до вивчення вірусів внесли російські вірусологи: М.А. Морозов, Н.Ф. Гамалея, Л.А. Зільбер, М.П. Чумаков, А.А. Смородінцев, В.М. Жданов і ін.

Віруси - найдрібніші мікроби («агенти, що фільтруються»), що не мають клітинної будови, білоксинтезуючої системи, що містять один тип нуклеїнової кислоти (тільки ДНК або РНК). Віруси, будучи облігатними внутрішньоклітинними паразитами, репродукуються в цитоплазмі або ядрі клітини. Вони є автономними генетичними структурами і відрізняються особливим, роз'єднаним (диз'юнктивним), способом реплікації (репродукції): у клітині окремо синтезуються нуклеїнові кислоти вірусів і їх білки, потім відбувається їх збірка у вірусні частинки. Сформована вірусна частинка називається віріоном.

Основними властивостями вірусів є:

1. Ультрамікроскопічні розміри;
2. Вміст нуклеїнової кислоти тільки одного типу (ДНК або РНК);
3. Відсутність здатності до зростання і бінарного ділення;

4. Реплікація шляхом відтворення себе з власної нуклеїнової кислоти генома;
5. Відсутність власних систем мобілізації енергії;
6. Відсутність білок-синтезуючих систем;
7. Віруси - абсолютні внутрішньоклітинні паразити.

Морфологію і структуру вірусів вивчають за допомогою електронної мікроскопії, оскільки їх розміри малі і порівнянні з товщиною оболонки бактерій.

Розрізняють просто влаштовані віруси (наприклад, віруси поліомієліту, гепатиту А) і складно влаштовані віруси (наприклад, віруси кори, грипу, герпесу, коронавіруси).

У просто влаштованих вірусів нуклеїнова кислота пов'язана з білковою оболонкою, званою капсидом (від лат. *capsa* - футляр). Капсид складається з повторюваних морфологічних суб'єдинць - капсомерів. Нуклеїнова кислота і капсид взаємодіють один із одним і разом називаються нуклеокапсидом.

У складно влаштованих вірусів капсид оточений ліпопротеїновою оболонкою - суперкапсидом, або пеплосом. Оболонка вірусу є похідною структурою від мембран вірус-інфікованої клітини. На оболонці вірусу розташовані глікопротеїнові «шпильки», або «шипіки» (пепломери, або суперкапсидні білки). Під оболонкою деяких вірусів знаходиться М-білок.

Таким чином, просто влаштовані віруси складаються з нуклеїнової кислоти і капсида. Складно влаштовані віруси складаються з нуклеїнової кислоти, капсида і ліпопротеїнової оболонки.

Віріони мають спіральний, ікосаедричний (кубічний) або складний тип симетрії капсида (нуклеокапсида). Спіральний тип симетрії обумовлений гвинтоподібною структурою нуклеокапсида (наприклад, у вірусів грипу, коронавірусів). Ікосаедричний тип симетрії обумовлений утворенням ізометричного полого тіла з капсида, що містить вірусну нуклеїнову кислоту (наприклад, у вірусу герпесу).

Капсид і оболонка (суперкапсид) захищають віріони від дії навколишнього середовища, обумовлюють виборчу взаємодію (адсорбцію) з певними клітинами, а також антигенні і імуногенні властивості віріонів. Внутрішні структури вірусів називають серцевиною. У аденовірусів серцевина складається з гистоноподібних білків, пов'язаних з ДНК, у реовірусів - з білків внутрішнього капсида.

Форма віріонів може бути різною: паличкоподібною (ортоміксовіруси, параміксовіруси, коронавіруси), пульпоподібною (рабдовіруси), сферичною (віруси поліомієліту, ВІЛ, аденовіруси), нитевидною (філовіруси), у вигляді сперматозоїда (бактеріофаги).

Розміри вірусів визначають за допомогою електронної мікроскопії, методом ультрафільтрації через фільтри з відомим діаметром пір, методом ультрацентрифугування. Найбільш дрібними вірусами є парвовіруси (18 нм) і вірус поліомієліту (близько 20 нм), найбільш великим - вірус натуральної віспи (близько 350 нм).

Розрізняють віруси, що містять ДНК або РНК. Вони зазвичай гаплоїдні, тобто мають один набір генів. Виключенням є ретровіруси, що мають диплоїдний геном. Геном вірусів містить від шести до декількох сотень генів і представлений різними видами нуклеїнових кислот: двунитевими, одонитевими, лінійними, кільцями, фрагментованими.

Серед РНК-вмісних вірусів розрізняють віруси з позитивним (плюс-нитка РНК) геномом. Плюс-нитка РНК цих вірусів виконує спадкову (геномну) функцію і функцію інформаційної РНК (іРНК).

Є також РНК-вмісні віруси з негативним (мінус-нитка РНК) геномом. Мінус-нитка РНК цих вірусів виконує тільки спадкову функцію.

Геном вірусів здатний включатися в геном клітини у вигляді провіруса, проявляючи себе генетичним паразитом клітини. Нуклеїнові кислоти деяких вірусів, наприклад, вірусів герпесу, можуть знаходитися в цитоплазмі інфікованих клітин, нагадуючи плазміди.

У вірусології використовують наступні таксономічні категорії: сімейство (назва закінчується на *viridae*), підродина (назва закінчується на *virinae*), рід (назва закінчується на *virus*). Проте назви родів і особливо підродин є не для всіх вірусів. Вид вірусу не отримав біноміальної назви, як у бактерій.

У основу класифікації вірусів покладені наступні категорії: тип нуклеїнової кислоти (ДНК або РНК), її структура, кількість ниток (одна або дві), особливості відтворення вірусного генома, розмір і морфологія віріонів, кількість капсомерів і тип симетрії нуклеокапсида, наявність оболонки (суперкапсида), чутливість до ефіру і дезоксихолату, місце репродукції в клітині, антигенні властивості і ін.

Іншими незвичайними агентами, близькими до вірусів, є віроїди - невеликі молекули кільцевої РНК, що суперспіралізована, вони не містять білка і викликають захворювання рослин.

Розрізняють три типи взаємодії вірусу з клітиною: продуктивний, абортивний і інтеграційний.

1. Продуктивний тип - завершується утворенням нового покоління віріонів і загибеллю (лізисом) заражених клітин (цитолітична форма). Деякі віруси виходять з клітин, не руйнуючи їх (нецитолітична форма).

2. Абортивний тип - не завершується утворенням нових віріонів, оскільки інфекційний процес в клітині уривається на одному з етапів.

3. Інтеграційний тип, або вірогенія - характеризується вбудовуванням (інтеграцією) вірусної ДНК у вигляді провірусу в хромосому клітини і їх сумісним співіснуванням (сумісна реплікація).

Репродукція вірусів

I. Продуктивний тип взаємодії вірусу з клітиною, тобто репродукція вірусу (лат. ге - повторення, productio - виробництво), проходить у 6 стадій:

- 1) адсорбція віріонів на клітині;
- 2) проникнення вірусу в клітину;
- 3) «роздягання» і вивільнення вірусного генома (депротеїнізація вірусу);
- 4) синтез вірусних компонентів;
- 5) формування віріонів;
- 6) вихід віріонів із клітини.

II. Абортивний тип взаємодії вірусів з клітиною.

Цей тип взаємодії не завершується утворенням вірусного потомства і може виникати при наступних обставинах:

- 1) зараження чутливих клітин дефектними вірусами або дефектними віріонами;
- 2) зараження стандартним вірусом генетично резистентних до нього клітин;
- 3) зараження стандартним вірусом чутливих клітин в непермісивних (що не дозволяють) умовах.

Розрізняють дефектні віруси, дефектні віріони і псевдовіріони.

Дефектні віруси існують як самостійні види, які репродукуються лише за наявності вірусу-помічника (наприклад, вірус гепатиту D репродукується тільки у присутності вірусу гепатиту В).

Дефектні віріони зазвичай позбавлені частини генетичного матеріалу і можуть накопичуватися в популяції багатьох вірусів при множинному зараженні клітин.

Псевдовіріони - це віруси, в капсид яких поміщена нуклеїнова кислота клітини господаря, а не вірусна нуклеїнова кислота.

III. Інтеграційний тип взаємодії вірусів з клітиною (вірогенія).

Це взаємне співіснування вірусу і клітини в результаті інтеграції нуклеїнової кислоти вірусу в хромосому клітини господаря. При цьому інтегрований геном вірусу реплікується і функціонує як складова частина генома клітини.

Культивування вірусів

Культивувати віруси можна тільки на біологічних моделях: у організмі лабораторних тварин, в курячих ембріонах, що розвиваються, і культурах клітин.

Методи культивування і індикації вірусів

1. Культивування вірусів в організмі лабораторних тварин.
2. Культивування вірусів в курячих ембріонах.
3. Культивування вірусів в тканинних культурах.

Клітинна культура - система клітин, що отримується з тканини, знаходиться у вигляді шару клітин, прикріплених до скла, або у вигляді суспензії.

Найбільш практичне застосування отримали одношарові культури первинно-трипсинізованих клітин і ліній клітин, що перевиваються.

Суть методів при приготуванні первинних культур тканин полягає в руйнуванні міжклітинної тканини і роз'єднуванні клітин для подальшого отримання моношару. Роз'єднування клітин проводиться шляхом дії на тканину протеолітичних ферментів (трипсину).

Для культивування культури клітин застосовують синтетичні живильні середовища - 199, Ігла, Хенкса, Ерла (ці середовища мають амінокислоти, вітаміни, глюкозу, мінеральні солі). Зміна живильного середовища проводиться через 2-3 дні.

1. Первинні (трипсинізовані) культури клітин - у яких міжклітинні зв'язки руйнують ферментами (трипсином, панкреатином) і отримують моношар клітин на склі.

2. Що перевиваються (стабільні):

- а) нормальні (ПКБ - нирки барана; СМЦ - серце мавпи циномольтус);
- б) пухлинні - Нела - рак шийки матки; Нер - 1 - епідермоїдний рак гортані; Дейтройт 6 - кістковий мозок хворого на рак легені.

Про наявність вірусу в зараженій культурі клітин можна судити за цитопатичною дією (ЦПД) - патологічними змінами морфології клітин, аж до їх загибелі, що виникають в результаті репродукції вірусів, і спостерігаються під мікроскопом:

1. Дегенерація клітин (округлення, зміна форми, руйнування);
2. Поява включень (Ліпшютс - вірус герпесу; Гварнієрі - вірус натуральної віспи і тілець Бабеша-Негрі - вірус сказу);
3. Руйнування пласта клітин (параміксовіруси);
4. Утворення гігантських багатоядерних клітин - симпластів (вірус кору).

5. Утворення «негативних колоній», або «бляшкоутворення» - обмежені ділянки зруйнованих вірусами клітин у суцільному моношарі культури клітин. Вони видні неозброєним оком у вигляді світлих плям на тлі забарвленого моношару живих клітин. Додавання агару в живильне середовище обмежує розповсюдження вірусів по всьому моношару після виходу їх із зруйнованої клітини і забезпечує взаємодію вірусів тільки з

сусідніми клітинами. Кожна «бляшка» утворюється потомством одного віріона.

Основні методи індикації вірусів в культурі тканин:

1. Гемаглютинація;
2. Гемадсорбція;
3. Реакція нейтралізації вірусів в культурі тканин;
4. Кольорова реакція Солка.

Реакція гемаглютинації - склеювання еритроцитів при додаванні матеріалу, що містить вірус (є вірус - еритроцити осідають у вигляді "парасольки"; немає вірусу - у вигляді "диска").

Реакція гемадсорбції - адсорбція еритроцитів на поверхні уражених вірусом клітин і утворення характерних скупчень (вірус грипа викликає аглютинацію еритроцитів островкового типу).

Кольорова реакція Солка - заснована на зміні кольору живильного середовища. В результаті життєдіяльності клітин в живильне середовище виділяються продукти клітинного метаболізму і відбувається зрушення рН в кислу сторону, про що свідчить зміна кольору середовища з червоного в жовтий. Якщо вірус присутній і реплікується в культурі, то унаслідок руйнуючої дії вірусу клітини дегенеруються, і пригнічується їх метаболізм, тобто колір середовища не змінюється.

Методи діагностики вірусних захворювань

1. Вірусоскопічний - в досліджуваному матеріалі за допомогою електронної мікроскопії виявляються віріони, а за допомогою світлооптичної - внутрішньоклітинні включення (недолік світлооптичної мікроскопії - неспецифічність).

2. Метод імунної електронної мікроскопії - специфічний, чутливий і надійний метод. У основі лежить взаємодія антитіл (Ат) з вірусами при змішуванні матеріалу із специфічною сироваткою. В результаті утворюється мікропреципітат, що складається з вірусних частинок, покритих «віночком» (метод громіздкий і не застосовується для масових досліджень).

3. Вірусологічний - виділення і ідентифікація вірусів з використанням клітинних культур або курячих ембріонів, зараження лабораторних тварин.

Методи ідентифікації вірусів:

- нейтралізації цитопатичної дії (ЦПД);
- нейтралізація реакції гемадсорбції;
- гальмування реакції гемаглютинації;
- нейтралізація в дослідках на тваринах.

Для ідентифікації застосовуються типоспецифічні сироватки.

4. Серологічні - для виявлення як специфічних антитіл (АТ), так і вірусних антигенів (АГ):

5. Імунофлуоресцентний метод (прискорена діагностика).
6. Біологічний метод.
7. Імунохроматографічний аналіз.
8. Метод ДНК-зонда (гібридизація) в основі лежить здатність однонитчастих молекул нуклеїнових кислот вступати у взаємодію з комплементарними нитками і утворювати двунитчасті гібридні молекули. Гібридизація здійснюється на мембрані нітроцелюлози (тверда підкладка). Досліджувану клітинну суспензію лізують для вивільнення нуклеїнових кислот. ДНК денатурує, а одноцепочечні молекули, що утворилися, переносять на мембрану, де вони ковалентно зв'язуються з ДНК-зондом, який є міченим ізотопом або ферментом денатурованими молекулами нуклеїнової кислоти. Гібридизація (спаровування) відбудеться, якщо між зондом і ниткою ДНК є гомологія.

9. ПЛР (полімеразна ланцюгова реакція) - даний метод заснований на виявленні в досліджуваному зразку специфічного фрагмента ДНК збудника і на принципі природної реплікації ДНК, що включає розплітання подвійної спіралі ДНК, розбіжність ниток ДНК і комплементарне добудовування обох ниток.

Конкретні цілі:

1. Тракувати морфологію і ультраструктуру вірусів.
2. Ознайомитися з класифікацією вірусів.
3. Аналізувати особливості взаємодії вірусів з живими системами.
4. Оцінювати результати реплікації вірусів в живих системах.
5. Аналізувати методи культивування вірусів в лабораторних умовах.
6. Тракувати сучасні методи лабораторної діагностики вірусних захворювань.

Уміти:

1. Проводити алгоритм реплікації вірусів з різними типами взаємодії їх з живими системами.
2. Оцінити кольорову пробу Солка, реакцію гемаглютинації і гемадсорбції.
3. Проводити мікроскопію препаратів культури клітин з різними видами ЦПД вірусів за допомогою імерсійного мікроскопа.

Теоретичні питання:

1. Загальна характеристика вірусів, їх основні властивості.
2. Морфологія і ультраструктура віріона.
3. Класифікація вірусів. Принципи, покладені в основу.
4. Методи культивування вірусів.
5. Методи індикації і ідентифікації вірусів (характер ЦПД в культурі тканини, реакція гемадсорбції і гемаглютинації і ін.)

6. Сучасні методи лабораторної діагностики вірусних захворювань.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Мікроскопія інтактних пробірочних культур фібробластів і уражених різними вірусами клітин.

2. Овоскопія курячих ембріонів.

3. Зарисовка демонстраційних препаратів з ЦПД вірусів в протокол заняття.

4. Оформлення протоколу.

Література:

1. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / Под ред. А. А. Воробьева. – М. : ООО «Медицинское информационное агенство», 2006. – 704 с.

2. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / Под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова. – М. : ООО «Медицинское информационное агенство», 2003. – 236 с.

3. Поздеев О. К. Медицинская микробиология / О. К. Поздеев. – [под ред. В. И. Покровского] – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 765 с.

Додаткова література:

1. Букринская А. Г. Вирусология / А. Г. Букринская. – М. : Медицина, 1986. – 336 с.

2. Шувалова Е. П. Инфекционные болезни / Е. П. Шувалова. – [5-е изд., перераб. и доп.]. – М. : Медицина, 2001. – 642 с.

Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті.

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття. Самостійна робота складається з вивчення основних властивостей, молекулярно-генетичної організації, класифікації вірусів, розбору схеми реплікації різних вірусів. Вивчення сучасних методів лабораторної діагностики вірусних захворювань. Студенти проводять мікроскопію демонстраційних препаратів, замальовують мікропрепарати і дають необхідні пояснення. До складу самостійної роботи входить також аналіз і оцінка методів індикації вірусів. В кінці заняття проводиться тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. Серед школярів молодших класів був зареєстрований спалах ГРЗ. Яким з приведених методів експрес-діагностики можна підтвердити допущення, що цей спалах обумовлений аденовірусом?

А. РІФ.

В. Виделением вірусу.

С. РЗК.

Д. Шкіряно-алергічною пробою.

Е. Зараженням лабораторних тварин.

2. У вірусологічній лабораторії при зараженні курячих ембріонів змивом із зіву і носа, узятим від хворого на грип, виділили віруси, які викли-

кали гемаглютинацію 1% суміші еритроцитів. У якій з перерахованих серологічних реакцій можна визначити тип вірусу грипу?

- А. РП. В. РГА. С. РГГА. D. РН. Е. РА.

3. У інфекційну дитячу лікарню поступив хворий 3-х років з ознаками паралічу. Клініко-лабораторне обстеження дозволило поставити діагноз - поліомієліт. Яким шляхом відбулося зараження?

- А. Фекально-оральним. В. Трансмісивним.
С. Повітряно-пиловим. D. Інфузійним.
Е. Аерогенним.

4. При культивуванні вірусу поліомієліту на культурі тканини лаборант відзначив зміну кольору середовища культивування (так звана кольорова проба). Про що це свідчить?

- А. Культура тканини не придатна для подальших пасажів.
В. Вихідний матеріал містив інші віруси.
С. Окрім вірусів в культурі клітин виросли бактерії.
D. Вірус нормально репродукується. Е. Вірус не репродукується.

5. У лабораторію надіслали мазки-відбитки від хворого на ГРВІ. Який з перерахованих імунологічних тестів можна застосувати як експрес-діагностику?

- А. РІФ. В. Реакцію іммобілізації. С. РГА.
D. РЗК. Е. Реакцію імунного прилипання.

6. Змиви з носової частини глотки хворого з підозрою на грип ввели в алантоїсну порожнину курячого ембріона. Через 72 години інкубації для виявлення вірусу грипу узяли алантоїсну рідину для дослідження. За допомогою якої з приведених реакцій можна знайти вірус грипу в алантоїсній рідині?

- А. РГА. В. РП. С. РН. D. РА. Е. РЗК.

7. Президент США Ф. Рузвельт переніс паралітичну форму поліомієліту, будучи вже дорослим. Який з приведених шляхів зараження є найбільш вірогідним?

- А. Парентеральний. В. Статевий. С. Трансмісивний.
D. Через укуси тварин. Е. Фекально-оральний.

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Вивчення основних властивостей вірусів.
2. Ознайомлення з класифікацією вірусів.
3. Розбір схеми реплікації вірусів відповідно до типу взаємодії вірусу з живими системами.
4. Вивчення сучасних методів лабораторної діагностики вірусів.
5. Мікроскопія, аналіз і зарисовка демонстраційних препаратів.
6. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 2

Тема: Лабораторна діагностика грипу і ГРЗ.

Мета: Вивчення лабораторної діагностики грипу і ГРЗ.

Модуль 3. Загальна і спеціальна вірусологія.

Змістовний модуль 16. Спеціальна вірусологія.

Тема 5. Ортоміксовіруси.

Актуальність теми. В даний час грип є найбільш поширеною інфекцією на земній кулі і реєструється на всіх континентах. Особливістю цієї інфекції є швидкість розповсюдження. При епідемічних спалахах хворіє до 30-50% населення ураженого регіону, що приводить до значних економічних витрат. Так грип залишається неконтрольованою інфекцією. Під час епідемії страждають літні і ослаблені люди, особливо ті, які мають хронічні захворювання серця, легенів, а також діти, збільшується кількість смертей від серцево-судинних, легеневих захворювань.

Виявлені останніми роками нові властивості збудника грипу - здатність обмінюватися генетичною інформацією із збудниками грипу тварин і птахів, тривалий час зберігатися в організмі людини після одужання і навіть, як вважають, може бути одним з можливих чинників розвитку у людини повільних інфекцій. Все це підсилює значущість цієї проблеми і необхідність подальшого вивчення збудника грипу.

Віруси грипу і інших гострих респіраторних захворювань

Група гострих респіраторних (від лат. respiratio - дихання) вірусних інфекцій (ГРВІ) включає велику кількість найбільш поширених хвороб різних відділів дихальних шляхів, що характеризуються ураженням і аерогенним механізмом передачі.

ГРВІ можуть викликати більше 200 вірусів: віруси грипу, парагрипу, респіраторно-синцитіальний вірус, риновіруси, коронавіруси, реовіруси, аденовіруси, деякі серотипи вірусів Коксакі і ЕЧО. Всі ці віруси належать до різних сімейств і родів, відрізняються між собою за біологічними властивостями і тому вимагають індивідуального підходу при проведенні лабораторних досліджень.

Найбільше значення в патології людини мають віруси грипу.

Віруси грипу

Грип - гостре респіраторне захворювання, що характеризується ураженням слизових оболонок верхніх дихальних шляхів, лихоманкою, симптомами загальної інтоксикації, порушенням діяльності серцево-судинної і нервової систем. Грип відрізняється схильністю до епідемічного і пан-

демічного розповсюдження завдяки високій контагіозності і мінливості збудника.

У 1933 р. У. Сміт, К. Ендрюс і П. Лейдлоу від хворих на грип виділили вірус, названий згодом вірусом грипу типу А. У 1940 р. були відкриті віруси грипу типу В, а в 1947 р. - типу С. У Росії перші віруси грипу були виділені в 1936 р. А. А. Смородинцевим і віднесені до типу А.

Таксономія, класифікація. Віруси містять РНК, відносяться до сімейства Orthomyxoviridae (від греч. orthos - правильний, муха - слиз). Сімейство включає два роди: рід Influenzavirus об'єднує віруси грипу типів А і В, рід Influenza С представлений вірусом грипу типу С.

Морфологія і хімічний склад. Віріони мають сферичну форму діаметром 80-120 нм, рідше паличкоподібну і ниткоподібну; складаються з серцевини і зовнішньої ліпопротеїдної оболонки. Серцевина містить одностичасту лінійну фрагментовану мінус-нитчасту РНК, білковий капсид, оточений додатковою мембраною - шаром матрічного білка. Нуклеокапсид має спіральний тип симетрії. На поверхні суперкапсидної оболонки є шпильки глікопротеїдної природи, одні з яких є гемаглютиніном, інші - нейрамінідазою.

Культивування. Для культивування використовують курячі ембріони, культури клітин, іноді лабораторних тварин.

Антигенна структура. Віруси грипу мають внутрішні і поверхневі антигени. Внутрішні серцеподібні антигени є типоспецифічними, на підставі чого віруси грипу підрозділяються на типи А, В і С, поверхневі представлені гемаглютиніном (Н) і нейрамінідазою (N). Н - основний специфічний антиген, що викликає утворення вірус-нейтралізуючих антитіл і що забезпечує адсорбцію вірусу на клітинах, зокрема еритроцитах людини або тварин, внаслідок чого відбувається їх склеювання (гемаглютинація). Н викликає утворення антитіл, частково нейтралізуючих віруси; будучи ферментом, N бере участь у звільненні вірусів з клітини.

Характерною особливістю вірусів грипу, в основному типу А, є мінливість антигенів Н і N. Відомо три різновиди Н і два різновиди N. Залежно від їх поєднання виділяють три підтипи вірусу грипу А людини: H1N1, H2N2, H3N2, відповідно А1, А2, А3. Усередині підтипів є безліч антигенних варіантів, що відрізняються за структурою Н- і N-антигенів.

Мінливість поверхневих антигенів пов'язана з фрагментарною будовою РНК вірусу і може відбуватися у вигляді дрейфу і шифту. Дрейф - незначні зміни Н- і N-антигенів, що постійно здійснюються, в результаті точкових мутацій, що приводять до виникнення нових антигенних варіантів вірусу. Шифт (стрибок) - значні зміни Н- і N-антигенів, що рідко зустрічаються, в результаті рекомбінацій, що приводять до появи нових підтипів вірусу.

В порівнянні з вірусами грипу типу А антигенна структура вірусів грипу типу В змінюється тільки за типом дрейфу, а тип С не має N-антигена і мало мінливий.

Резистентність. В повітрі віруси грипу можуть зберігати інфекційні властивості при кімнатній температурі протягом декількох годин; чим вище температура і відносна вологість повітря, тим швидше інактивуються віруси. Збудники грипу чутливі до дії УФ-променів, багатьох дезінфікуючих засобів (формаліну, етилового спирту, фенолу, хлораміну), жиророзчинників; у рідкому середовищі інактивуються при температурі 50-60 °С протягом декількох хвилин. Тривалий час зберігаються в замороженому стані і в гліцерині.

Сприйнятливість тварин. У природних умовах віруси грипу типу А вражають як людину, так і тварин; віруси типів В і С тільки людину. Серед лабораторних тварин до вірусів грипу чутливі сірійські хом'яки, білі миші. Захворювання характеризується ураженням легенів і нерідко закінчується загибеллю тварин.

Епідеміологія. Зі всіх гострих респіраторних вірусних інфекцій грип є найбільш масовим і важким захворюванням. Пандемії і епідемії грипу охоплюють до 30-50 % населення земної кулі і більш, завдаючи величезного збитку здоров'ю людей і економіці країн. Так, пандемія грипу «іспанки», викликана вірусом А (H1N1) в 1918-1920 рр., охопила близько 1,5 млрд чоловік і унесла більше 20 млн життів. Сприйнятливість людей до грипу висока. Хворіють всі вікові групи населення, переважно в зимову пору року.

Виникнення пандемій і крупних епідемій зазвичай пов'язане з появою нового підтипу вірусу грипу А. Щорічні епідемічні спалахи викликаються новими антигенними варіантами одного підтипу. Останніми роками епідемії грипу пов'язані з вірусом грипу А (H3N2), хоча серед населення продовжують циркулювати віруси грипу А (H1N1) і В.

Джерелом грипозної інфекції є хвора людина з клінічно вираженою або безсимптомною формою. Шлях передачі - повітряно-краплинний (при розмові, кашлі, чханні).

Патогенез і клінічна картина. Віруси грипу упродовжуються і репродукуються в епітеліальних клітинах слизової оболонки верхніх дихальних шляхів, звідки проникають в кров і розносяться по всьому організму. Продукти розпаду пошкоджених клітин і деякі вірусні білки надають токсичну дію на різні органи і системи організму.

Інкубаційний період короткий - від декількох годин до 1-2 діб. Для грипу характерні гострий початок, висока температура тіла, загальна інтоксикація, що виражається в нездужанні, головному болю, болю в очних яблуках, ураження дихальних шляхів різного ступеня тяжкості. Гарячковий

стан при грипі без ускладнень продовжується не більше 5-6 днів. Тяжкість і результат хвороби нерідко пов'язані з ускладненнями, викликаними самим вірусом грипу (грипозна пневмонія, гострий набряк легенів) або умовно-патогенними бактеріями. Розвитку ускладнень сприяє пригнічуюча дія вірусів грипу на процеси кровотворення і імунну систему організму.

Імунітет. Після перенесеного захворювання формується стійкий типологічний і варіантоспецифічний імунітет, який забезпечується клітинними і гуморальними чинниками захисту. Велике значення мають антитіла класу IgA. Пасивний природний імунітет зберігається у дітей до 8-11 місяців життя.

Лабораторна діагностика. Матеріалом для виявлення вірусу або вірусного антигена служать мазки-відбитки із слизової оболонки носової порожнини, виділення носоглотки, при летальних результатах - шматочки легеневої тканини або мозку. Експрес-діагностика заснована на виявленні вірусного антигена за допомогою РІФ; розроблена тест-система для ІФА. Для виділення вірусів використовують курячі ембріони. Індикацію вірусів грипу здійснюють при постановці реакції гемаглютинації. Ідентифікують виділені віруси поетапно: типологічну приналежність визначають за допомогою РЗК, підтип - РГГА. Серодіагностику проводять за допомогою РЗК, РГГА, РН в культурі клітин, реакції преципітації в гелі, ІФА.

Специфічна профілактика і лікування. Для специфічної профілактики використовують живі і інактивовані вакцини з вірусів грипу А (H1N1), А (H3N2) і В, культивованих в курячих ембріонах. Існує три типи інактивованих вакцин: віріонні (корпускулярні); розщеплені, в яких структурні компоненти віріона роз'єднані за допомогою детергентів; субодиночні, такі, що містять тільки гемаглютинін і нейрамінідазу. Вакцину з трьох вірусів грипу вводять інтраназально в одній дозі за спеціальною схемою. Вакцинація показана певним контингентам, що мають високий ризик зараження.

Проймає випробування культуральна інактивована вакцина. Ведуться розробки по створенню грипозних вакцин нового покоління: синтетичних, генно-інженерних. На жаль, у деякі роки з'являється досить низька ефективність вакцинації унаслідок високої мінливості вірусів грипу.

Для лікування, а також екстреної профілактики грипу застосовують протівірусні препарати (ремантадин, віразол, арбідол і ін.), препарати інтерферону і імуномодулятори (дібазол, левамизол і ін.).

Конкретні цілі:

1. Тракувати стадії взаємодії вірусу з клітиною.
2. Ознайомитися з методами культивування вірусів.
3. Ознайомитися з будовою курячого ембріона.
4. Вказати специфічні зміни в ембріоні.

5. Ознайомитися з технікою введення матеріалу, що містить вірус, в алантоїсну порожнину.

6. Ознайомитися з поняттям клітинної культури і ЦПД вірусу грипу в ній.

Уміти:

1. Заражати курячі ембріони в алантоїсну порожнину.

2. Розкривати курячі ембріони.

3. Вивчити зміни на хоріон-алантоїсній оболонці, викликані вірусом грипу.

4. Забирати алантоїсну рідину з курячого ембріона.

5. Ставити реакцію гемаглютинації і проводити її облік.

Теоретичні питання:

1. Класифікація вірусів, що викликають гострі респіраторні захворювання.

2. Характеристика вірусів грипу.

3. Будова віріона.

4. Будова генома (взаємодія вірусу з клітиною).

5. Антигенна структура вірусів грипу.

6. Мінливість вірусів грипу.

7. Основні методи культивування вірусу грипу (зараження курячого ембріона, культури клітин).

8. Патогенез грипу.

9. Мікробіологічна діагностика грипу.

10. Особливості протигрипозного імунітету. Антитіла. Інтерферон. Механізм їх дії.

11. Вакцини і профілактичні препарати.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Розтин курячого ембріона.

2. Збирання алантоїсної рідини.

3. Постановка і облік РГА.

4. Розбір і запис схеми лабораторної діагностики грипу.

5. Мікроскопія і зарисовка демонстраційних препаратів в протокол заняття.

6. Оформлення протоколу.

Література:

1. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / Под ред. А. А. Воробьева. – М. : ООО «Медицинское информационное агенство», 2006. – 704 с.

2. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / Под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова. – М. : ООО «Медицинское информационное агенство», 2003. – 236 с.

3. Поздеев О. К. Медицинская микробиология / О. К. Поздеев. – [под ред. В. И. Покровского] – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 765 с.

Додаткова література:

1. Букринская А. Г. Вирусология / А. Г. Букринская. – М. : Медицина, 1986. – 336 с.

2. Шувалова Е. П. Инфекционные болезни / Е. П. Шувалова. – [5-е изд., перераб. и доп.]. – М. : Медицина, 2001. – 642 с.

Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті.

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається із зараження курячого ембріона в хоріоналантоїсну оболонку. Студенти проводять розтини курячого ембріона, забирають алантоїсну рідину, виконують РГА і проводять її облік. Студенти проводять мікроскопію демонстраційних препаратів, замальовують їх в альбом і дають необхідні пояснення. Записують схеми лабораторної діагностики грипу.

В кінці заняття проводиться тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. З наближенням епідемії грипу районний епідеміолог складає заявку на профілактичні препарати. Який з них сприятиме формуванню активного імунітету і буде найменш реактогенним?

- A. Субодинична вакцина. B. Жива вакцина. C. Убита вакцина.
D. Донорський гама-глобулін. E. Лейкоцитарний інтерферон.

2. У місті - епідемія грипу. Який з перерахованих нижче препаратів можна рекомендувати людям для неспецифічної профілактики захворювання?

- A. Ремантадин. B. Протигрипозну вакцину.
C. Пеніцилін. D. Протигрипозний імуноглобулін.
E. Протигрипозну сироватку.

3. Вірус грипу містить внутрішні антигени - нуклеопротеїдний (NP), полімеразні (P1, P2, P3), матріксний білок (M) і зовнішні антигени - гемаглютинін (H) і нейрамінідазу (N). Які з них грають основну роль в створенні імунітету до грипозної інфекції?

- A. Гемаглютинін і нейрамінідаза. B. Нуклеопротеїдні антигени.
C. Матріксний білок. D. Полімеразні білки.
E. Нейрамінідаза і нуклеопротеїд.

4. У відділенні патологоанатомії інфекційної лікарні доставлений труп людини з попереднім діагнозом: «Грип?». Які дослідження необхідно застосувати для підтвердження цього діагнозу?

- A. Виявлення антитіл в реакції зв'язування комплекменту.

- В. Електронно-мікроскопічне виявлення вірусу.
- С. Виявлення внутрішньоклітинних включень при світловій мікроскопії.
- Д. Виявлення високих титрів антитіл в реакції гальмування гемаглютинації.
- Е. Виділення і серологічна ідентифікація вірусу.
- 5. Зараження курячих ембріонів - основний метод виділення вірусу грипу. При введенні в курячий ембріон досліджуваного матеріалу (змиву з носоглотки) з метою деконтамінації до нього заздалегідь додають:
 - А. Формалін.
 - В. Калійперйодат.
 - С. Розчин Ігла.
 - Д. Стрептоміцин і пеніцилін.
 - Е. Ефір.
- 6. Для виділення вірусу грипу з доставленого матеріалу в лабораторії використовували курячі ембріони. Який з перерахованих показників є основним для визначення накопичення вірусу через 48-72 години?
 - А. РА.
 - В. РГА з алантоїсною рідиною.
 - С. Гибель курячого ембріона.
 - Д. Наявність крові в алантоїсній оболонці.
 - Е. Утворення бляшок на хоріон-алантоїсній оболонці.
- 7. В період гострої респіраторної інфекції для експрес-діагностики грипу проводиться виявлення специфічного вірусного антигена в досліджуваному матеріалі (слиз з носоглотки). Яку серологічну реакцію використовують для цього?
 - А. Зв'язування комплексу.
 - В. Імунофлюоресценції.
 - С. Аглютинації.
 - Д. Преципітації.
 - Е. Нейтралізації.

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Вивчення методів культивування вірусів грипу.
2. Зараження курячого ембріона в хоріон-алантоїсну оболонку.
3. Постановка і облік реакції гемаглютинації.
4. Освоєння реакції гальмування гемаглютинації.
5. Розтин курячих ембріонів, заражених змивом із зіву хворого на грип, збирання алантоїсної рідини.
6. Мікроскопія і аналіз демонстраційних препаратів.
7. Зарисовка препаратів в протокол.
8. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 3

Тема: Лабораторна діагностика аденовірусних інфекцій.

Мета: Вивчення лабораторної діагностики аденовірусних інфекцій.

Модуль 3. Загальна і спеціальна вірусологія.

Змістовний модуль 16. Спеціальна вірусологія.

Тема 12. Аденовіруси.

Актуальність теми: Актуальність представляє окремі біологічні аспекти аденовірусної інфекції, а саме, здатність викликати онкогенну трансформацію клітин тварин, здатність до тривалої латенції у деяких типів клітин господаря, можливість інтерференції з іншими вірусами з утворенням гібридних вірусів, що володіють особливими біологічними властивостями, у тому числі і посилення онкогенності. На моделі аденовірусів вивчають важливі молекулярно-біологічні чинники.

Аденовірусні захворювання (adenovirus, pharyngoconjunctival fever-PCF - англ.) - гострі вірусні хвороби, що протікають з переважним ураженням органів дихання, очей і лімфатичних вузлів.

Аденовіруси вперше були виділені американськими ученими Р.Дж. Хьюбером, У.П. Роу, Л. Гілмором, Р. Парот, Т.Е. Уордом в 1953 році з тканини мигдалини, аденоїдів і лімфатичних вузлів, отриманих від практично здорових дітей під час операцій. Сам термін "аденовіруси" запропонований Дж. Ендерсом, Т. Френсисом у 1956 р.

Аденовіруси відносяться до сімейства Adenoviridae, в яке входять два роди - аденовіруси ссавців (у тому числі і людини) і аденовіруси птахів. На даний час відомо 94 сероварів, з них 32 - виділені від людини. Очевидно, аденовіруси - основна група вірусів, які можна виділити з лімфатичної тканини ротоглотки і випорожнень будь-якої практично здорової людини. Спалахи захворювань частіше обумовлені типами 3, 4, 7, 8, 14 і 21. Тип 8 викликає епідемічний кератокон'юнктивіт. Діаметр віріонів аденовірусів 60-90 нм, вони містять двунитчасту дезоксирибонуклеїнову кислоту (ДНК), покриту капсидом. ДНК формує серцевину вірусу, видну в електронний мікроскоп. У складі всіх аденовірусів виявлено 7 антигенів, але не всі вони мають однакове значення: А-антиген груповий - загальний для всіх сероварів аденовірусів, володіє комплементзв'язуючою активністю; В-антиген токсичний; С-антиген токсичний, типоспецифічний, сприяючий абсорбції вірусів на еритроцитах.

Джерело інфекції: хворі з клінічно вираженими або стертими формами захворювання, менше значення в розповсюдженні мають вірусоносії. За-

раження може відбутися, зокрема, і при купанні в природних водоймищах і басейнах.

Механізм передачі інфекції: вірус виділяється в гострий період хвороби з носовим і носоглотковим слизом, а в пізніші терміни - з фекаліями. Основний шлях передачі інфекції повітряно-краплинний і контактний. Не виключена можливість і аліментарного шляху передачі інфекції (фекально-оральний механізм зараження).

Захворюваність підвищується в холодну пору року. Найбільш сприйнятливі до інфекції діти від 6 міс до 5 років. На цей вік доводиться 2/3 усіх випадків аденовірусної інфекції. Переважна більшість новонароджених і дітей до 6 міс не хворіють зважаючи на наявність у них пасивного природного імунітету. У 95% дорослого населення в сироватці крові виявляються антитіла до найбільш поширених сероварів вірусу. Серед дорослих висока захворюваність в знов сформованих колективах (у перші 2 -3 міс).

Розвиток аденовірусної інфекції: Місцем інфекції є переважно слизисті оболонки верхніх дихальних шляхів, рідше - око (кон'юнктива). Аденовіруси розмножуються в слизистій оболонці з поступовим послідовним розповсюдженням інфекції на нижчерозташовані відділи дихального тракту (трахея, бронхи). Розмноження аденовірусів може відбуватися в тканині кишечника, лімфатичних вузлах. При цьому лімфатичні вузли різних груп збільшуються в розмірах. Крім місцевих змін, аденовіруси мають загальну токсичну дію на організм у вигляді лихоманки і симптомів загальної інтоксикації.

Симптоми і перебіг захворювання. Інкубаційний період коливається від 4 до 14 днів (частіше 5-7 днів). Основними клінічними формами є: ринофарингіти, ринофаринготонзилити, фарингокон'юнктивальна лихоманка, кон'юнктивіти і кератокон'юнктивіти, аденовірусна пневмонія. Аденовіруси можуть викликати і інші клінічні форми - діарею, гострий неспецифічний мезаденіт і ін. Для будь-якої з клінічних форм аденовірусної інфекції характерне поєднання ознак ураження респіраторного тракту і інших симптомів (кон'юнктивіт, діарея, мезаденіт і ін.). Виключення складає кератокон'юнктивіт, який може протікати ізольовано, без ураження дихальних шляхів.

Аденовірусні захворювання починаються гостро з підвищення температури тіла, симптомів інтоксикації (час від часу морозить, головний біль, слабкість, зниження апетиту, м'язові болі і ін.). Але навіть при високій лихоманці загальний стан хворих залишається задовільним і не погіршується в тій мірі, яка властива грипу. Лихоманка, як правило, продовжується до 6-14 днів. При аденовірусних захворюваннях, що протікають тільки з ураженням верхніх дихальних шляхів, температура зберігається 2-3 дні і

нерідко не перевищує субфебрильних цифр. Найчастіше з'являється нежить і першіння в горлі (ринофарингіт), у деяких хворих приєднуються біль в горлі при ковтанні (ринофаринготонзиліт). Рідко виникають ознаки ларингіту, трахеїту і бронхіту. Гострий ларинготрахеобронхіт спостерігається у дітей молодшого віку. Основні його ознаки: осиплість голосу, поява грубого "гавкаючого" кашлю, розвиток стенотичного дихання (утруднене, галасливе, свистяче). Нерідко виникає синдром несправжнього крупу без порушення мови. Запальні прояви з боку дихальних шляхів можуть поєднуватися із запаленням кон'юнктив (сльозотеча, відчуття піску в оці, світлобоязнь і т.д.). У багатьох хворих збільшуються периферичні лімфатичні вузли, особливо передньо- і задньошийні, іноді - пахові і пахові. Гастроентерити спостерігаються зазвичай у дітей молодшого віку. Аденовірусна інфекція протікає важче і тривало у дітей раннього віку з наявністю повторних хвиль захворювання, порівняно частим приєднанням пневмонії. Люди літнього віку хворіють на аденовірусну інфекцію рідко.

Ускладнення можуть виникнути на будь-якому терміні аденовірусного захворювання і залежать від приєднання бактерійної флори. Найчастіше зустрічаються пневмонія, тонзиліт (ангіна), рідше - гайморит, фронтит.

Діагностика. Для раннього лабораторного підтвердження діагнозу використовують виявлення вірусного антигена в епітеліальних клітинах слизової оболонки носоглотки за допомогою імунофлуоресцентного методу. Застосовують і серологічний метод (РЗК з аденовірусним антигеном). Діагностичним вважається наростання титру антитіл в парних сироватках в 4 рази і більше.

Лікування і профілактика. Лікування неускладнених форм аденовірусної інфекції проводиться також, як і при грипі і інших ГРЗ. В тому випадку, якщо у хворого розвинувся кон'юнктивіт, кератит або кератокон'юнктивіт, використовують дезоксирибонуклеазу 0,05% розчин по 1-2 краплі в кон'юнктивальну складку; полудан у вигляді очних крапель і/або ін'єкцій під кон'юнктиву. Закопують в кон'юнктивальний мішок хворого ока 6-8 разів на день. У міру стихання запальних явищ - 3-4 рази на день; бонафтан у вигляді пігулок для прийому всередину і 0,05 % очній мазі в тубах по 10 г; теброфен (0,25-0,5 % очна мазь в тубах); флореналь (0,25-0,5 % очна мазь в тубах).

Для профілактики захворювань дихальних шляхів розроблені ефективні живі вакцини, що включають ослаблені віруси сероварів, найбільш часто викликаючих захворювання людини. Їх широке застосування зупиняють ті дані, що є у розпорядженні учених про можливу здатність аденовірусів викликати злоякісне переродження клітин організму тварин.

Конкретні цілі:

1. Вивчити збудники аденовірусних інфекцій.

2. Ознайомитися з методами культивування аденовірусів.
3. Робити висновки по мікроскопії препаратів (ЦПД вірусів).
4. Вивчити лабораторну діагностику аденовірусів.
5. Ознайомитися з ЦПД аденовірусів і їх ідентифікацією.

Уміти:

1. Визначати цитопатичну дію аденовірусів при мікроскопії мікропрепаратів.
2. Проводити диференціальну діагностику аденовірусів.
3. Робити облік серологічних реакцій, використовуваних при діагностиці аденовірусів.

Теоретичні питання:

1. Характеристика аденовірусів. Особливості репродукції.
2. Методи культивування аденовірусів. Ідентифікація і типування.
3. Шляхи передачі і патогенез аденовірусних інфекцій.
4. Прояв аденовірусних захворювань і вибір матеріалу для дослідження.
5. Серологічна діагностика аденовірусних інфекцій.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Вивчення ЦПД аденовірусів на культурі тканини на демонстраційних препаратах.
2. Студенти проглядають культуру тканини в пробірках під малим збільшенням і визначають стан клітини.
3. Розбір і запис в протокол схеми лабораторної діагностики аденовірусних інфекцій.
4. Мікроскопія і зарисовка демонстраційних препаратів в протокол заняття.
5. Оформлення протоколу.

Література:

1. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / Под ред. А. А. Воробьева. – М. : ООО «Медицинское информационное агентство», 2006. – 704 с.
2. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / Под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова. – М. : ООО «Медицинское информационное агентство», 2003. – 236 с.

Додаткова література:

- Букринская А. Г. Вирусология / А. Г. Букринская. – М. : Медицина, 1986. – 336 с.

Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті.

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття. Самостійна робота складається з мікроскопії демонстраційних препаратів. Студенти замальовують мікропрепарати в альбом і дають не-

обхідні пояснення. Записують схеми лабораторної діагностики. В кінці заняття проводиться тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. У хворого на гострий катаральний фолікулярний кон'юнктивіт виділили аденовірус серотипа 8. Який з перерахованих лікарських засобів можна застосувати для лікування цього хворого?

- A. Антибіотики. В. Бактеріофаг. С. РНКазу.
D. Сульфаніламід. Е. Інтерферон.

2. Від хворого на гострий кератокон'юнктивіт у вірусологічній лабораторії був виділений аденовірус. Яку з приведених форм має цей вірус?

- A. Сферичну. В. Паличкоподібну. С. Ікосаедр.
D. Сперматозоїдну. Е. Нитевидну.

3. У одному з дошкільних дитячих колективів, де знаходилися діти у віці 1-2 років, зареєстрований спалах вірусного гастроентериту, якому передував високий рівень захворюваності гострими респіраторними захворюваннями цих дітей. Назвіть найбільш вірогідних збудників вірусного гастроентериту, що виник на тлі попередньої респіраторної інфекції.

- A. Морбіллівіруси. В. Ротавіруси. С. Ентеровіруси.
D. Аденовіруси. Е. Коронавіруси.

4. Серед школярів молодших класів був зареєстрований спалах ГРЗ. Яким з приведених методів експрес-діагностики можна підтвердити припущення, що цей спалах обумовлений аденовірусами?

- A. Постановкою реакції імунної флюоресценції.
B. Виділенням вірусу.
C. Постановкою реакції зв'язування комплементу.
D. Постановкою шкіряно-алергічної проби.
E. Зараженням лабораторних тварин.

5. В лабораторній діагностиці аденовірусних інфекцій тип вірусу визначається в:

- A. Реакції імунофлюоресценції. В. РЗК.
C. Реакції гемадсорбції. D. Реакція нейтралізації. Е. ІФА.

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Техніка приготування препаратів для визначення ЦПД аденовірусів в культурі тканини, забарвлення їх гематоксилінеозином.

2. Вивчення ЦПД аденовірусів на культурі тканин (на склах, забарвлених гематоксилінеозином), в пробірках.

3. Мікроскопія і аналіз демонстраційних препаратів.

4. Зарисовка препаратів в протокол.

5. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 4

Тема: Лабораторна діагностика ентеровірусних інфекцій.
Мета: Вивчення лабораторної діагностики поліомієліту і інфекцій, викликаних вірусами Коксакі і ЕСНО.

Модуль 3. Загальна і спеціальна вірусологія.

Змістовний модуль 16. Спеціальна вірусологія.

Тема 7. Пікорнавіруси.

Актуальність теми. Ентеровіруси (від греч. enteron - кишка) - віруси, що мешкають переважно в кишечнику людини і що виділяються в навколишнє середовище з фекаліями.

Таксономія і класифікація. Ентеровіруси - віруси, що містять РНК, відносяться до сімейства Picornaviridae (від лат. pico - мала величина, gna - РНК), роду Enterovirus. Представниками роду є віруси поліомієліту, Коксакі, ЕСНО, ентеровіруси типів 68-71.

Морфологія і хімічний склад. Ентеровіруси - найдрібніші і найбільш просто організовані віруси сферичної форми, діаметром 20-30 нм, складаються з одонитчатої лінійної плюс-нитчатої РНК і капсида. Капсид побудований з 60 білкових суб'єдинець, укладених за кубічним типом симетрії. Віруси не мають зовнішньої суперкапсидної оболонки. У їх складі немає вуглеводів і ліпідів, тому вони нечутливі до ефіру і інших жиророзчинників.

Культивування. Більшість ентеровірусів, за винятком вірусів Коксакі А, добре репродукуються в первинних клітинних культурах, в культурах, що перевиваються, з тканин людини і мавпи. Процес репродукції вірусів відбувається в цитоплазмі клітин і супроводжується цитопатичним ефектом. У культурах клітин під агаровим покриттям ентеровіруси утворюють бляшки.

Антигенна структура. Антигенні властивості вірусів пов'язані з 4 видами капсидних білків. Ентеровіруси мають загальний для роду групоспецифічний комплементзв'язуючий і типоспецифічний антигени.

Резистентність. Ентеровіруси стійкі до чинників навколишнього середовища, тому тривало (місяцями) виживають у воді, ґрунті, деяких харчових продуктах і на предметах ужитку. Багато дезінфектантів (фенол, спирт) малоефективні відносно ентеровірусів, проте останні гинуть під дією УФ-променів, висушування, окислювачів, формаліну, температури 50 °С протягом 3 хв, при кип'яченні - протягом декількох секунд.

Сприйнятливості тварин. Ентеровіруси істотно розрізняються за патогенністю для лабораторних тварин.

Епідеміологія і патогенез. Захворювання, що викликаються ентеровірусами, поширені повсюдно, відрізняються масовим характером з переважним ураженням дітей. Водні, харчові епідемічні спалахи ентеровірусних інфекцій реєструються протягом всього року, але найчастіше в літні місяці. Значно поширене носійство вірусів поліомієліту, Коксаки, ЕСНО.

Джерелом інфекції є хворі і носії, що виділяють ентеровіруси у великій кількості з фекаліями. Основний механізм передачі - фекально-оральний. Ентеровіруси передаються через воду, ґрунт, харчові продукти, предмети ужитку, забруднені руки, переносяться мухами. Проте в перші 1-2 тижні хвороби ентеровіруси короткочасно виділяються з носоглотки, обумовлюючи повітряно-краплинний шлях передачі.

Ентеровіруси проникають в організм через травний тракт, репродукуються в епітелії і лімфатичних вузлах ротоглотки і тонкої кишки, потім потрапляють в кров, викликаючи вірусемію. Подальше розповсюдження вірусів, а також ураження того або іншого органу залежить від типу ентеровірусу і імунного статусу людини.

Особливості клінічних проявів. Вірус поліомієліту викликає самостійну нозологічну форму - поліомієліт. Інші ентеровіруси викликають захворювання, що характеризуються різноманіттям клінічних проявів, оскільки можуть вражати різні органи і тканини: ЦНС (поліомієлітоподібне захворювання, менінгіти і енцефаліт), мускулатуру (міалгія, міокардит), органи дихання (гострі респіраторні захворювання), травний тракт (гастроентерит, діарея), шкірні і слизисті покриви (кон'юнктивіт, гарячкові захворювання з висипом і без нього) і ін.

Імунітет. Після перенесеної ентеровірусної інфекції в організмі формується стійкий, але типоспецифічний імунітет.

Профілактика. При більшості ентеровірусних захворювань специфічні засоби профілактики відсутні.

Віруси поліомієліту

Поліомієліт - гостре лихоманкове захворювання, яке в частині випадків супроводжується ураженням сірої речовини (від греч. *poluos* - сірий) спинного мозку і мозкового стовбура, внаслідок чого розвиваються м'яві атрофічні парези і паралічі м'язів ніг, рук, тулуба.

Поліомієліт відомий з глибокої старовини. У 1909 р. К. Ландштейнер і Е. Поппер довели вірусну етіологію поліомієліту.

Антигенна структура. Відомо три серологічних типи вірусів поліомієліту - I, II, III, які не викликають перехресного імунітету. Всі три серотипа в експерименті патогенні для мавп, у яких виникає захворювання, схоже за клінічними проявами з поліомієлітом у людини.

Патогенез і клінічна картина. Вхідними воротами інфекції є слизисті оболонки верхніх дихальних шляхів і травного тракту. Первинна репро-

дукція вірусів відбувається в лімфатичних вузлах глоткового кільця і тонкої кишки. Це обумовлює рясне виділення вірусів з носоглотки і з фекаліями ще до появи клінічних симптомів захворювання. З лімфатичної системи віруси проникають в кров (вірусемія), а потім в ЦНС, де вони вибірково вражають клітини передніх рогів спинного мозку (рухові нейрони), внаслідок чого виникають паралічі. У разі накопичення в крові віруснейтралізуючих антитіл, блокуючих проникнення вірусу в ЦНС, ураження ЦНС не спостерігається.

Інкубаційний період продовжується в середньому 7-14 днів. Розрізняють три клінічні форми поліомієліту: паралітичну (1 % випадків), менингеальну (без паралічів), абортивну (легка форма). Захворювання починається з підвищення температури тіла, загального нездужання, головних болів, блювоти, болей в горлі. Поліомієліт нерідко має двохвиловий перебіг, коли після легкої форми і значного поліпшення, що наступило, розвивається важка форма хвороби. Паралітичну форму частіше викликає вірус поліомієліту серотипа I.

Імунітет. Після перенесеного захворювання залишається довічний типоспецифічний імунітет, обумовлений антитілами і місцевою резистентністю слизової оболонки глотки і кишечника. Пасивний природний імунітет зберігається протягом 3-5 тижнів життя дитини.

Лабораторна діагностика. Матеріалом для дослідження є фекалії хворих, виділення носоглотки, при летальних результатах - шматочки головного і спинного мозку, лімфатичні вузли.

Виділення вірусів поліомієліту проводять шляхом зараження досліджуваним матеріалом первинних (клітини нирок мавп) та культур клітин, що перевиваються. Про репродукцію вірусів судять за цитопатичним ефектом. Ідентифікують (типують) виділений вірус за допомогою типоспецифічних сироваток в реакції нейтралізації (РН) на культурі клітин. Внутрішньотипова диференціація «диких» (вірулентних) і вакцинних варіантів вірусу поліомієліту проводиться за допомогою ІФА, РН цитопатичного ефекту вірусу в культурі клітин специфічними сироватками, а також ПЛР.

Серодіагностика включає РЗК, РН з парними сироватками хворих за допомогою еталонних штамів вірусу.

Специфічна профілактика і лікування. Епідемії поліомієліту охоплювали в 40-50-х роках тисячі і десятки тисяч людей, з яких 10 % вмирали і приблизно 40 % ставали інвалідами. Масове застосування вакцини проти поліомієліту привело до різкого зниження захворюваності в світі, у тому числі і в нашій країні.

Розроблена Дж. Солком (1953) інактивована вакцина проти поліомієліту не запобігала циркуляції поліовірусів серед населення, оскільки не забезпечувала місцеву резистентність травного тракту.

А. Себін (1956) отримав атенуйовані штами вірусу поліомієліту трьох типів і запропонував використовувати їх як живу вакцину.

У 1958 р. вітчизняні вірусологи А. А. Смородинцев і М. П. Чумаков розробили пероральну живу культуральну вакцину зі штамів Себіна (випускається в рідкому вигляді), яку використовують для щеплень дітям з тримісячного віку. Вакцина створює стійкий гуморальний і місцевий імунітет.

Лікування поліомієліту симптоматичне. Застосування гомологічного імуноглобуліну для попередження розвитку паралітичних форм вельми обмежене.

Віруси Коксакі, ЕСНО і ентеровіруси типів 68-71

Віруси Коксакі виділені в 1948 р. в США в містечку Коксакі з випорожнень хворих із поліомієлітоподібними захворюваннями. Віруси Коксакі за ступенем патогенності для новонароджених мишей розділені на 2 групи - Коксакі А (вражають скелетну мускулатуру з розвитком м'явих паралічів) і Коксакі В (вражають ЦНС з розвитком спастичних паралічів; викликають загибель мишей). Група А представлена 23 серотипами, група В - 6 серотипами, що відрізняються за антигенними властивостями. Віруси володіють гемаглютинуючою активністю.

Віруси ЕСНО отримали назву за початковими буквами слів: enteric cytopathogenic human orphan viruses (дослівно: кишкові цитопатогенні людські віруси-сироти). Віруси виділені в 1951-1953 рр. від хворих із захворюванням, що нагадує поліомієліт. На відміну від вірусів поліомієліту і Коксакі віруси ЕСНО не патогенні для всіх видів лабораторних тварин. Відомо більше 30 серотипів вірусів ЕСНО, що відрізняються за антигенними властивостями. Багато серотипів володіють гемаглютинуючими властивостями. Ентеровіруси серотипів 68-71 виділені в 70-х роках. Найбільше значення в патології людини мають вірус типу 70 (виділений під час пандемії гострого геморагічного кон'юнктивіту) і вірус типу 71 (виділений під час епідемії від хворих на менінгіти і енцефаліти). За біологічними властивостями ці віруси займають проміжне положення серед інших ентеровірусів.

Лабораторна діагностика. Досліджуванім матеріалом служать фекалії, носоглотковий змив, кров, спинномозкова рідина. Віруси виділяють в культурі клітин і на новонароджених мишах. Виділений вірус ідентифікують за допомогою РН на відповідних біологічних об'єктах, а також РГГА (для ентеровірусів, що володіють гемаглютинуючою активністю). Серодіагностика така ж, як при поліомієліті.

Специфічна профілактика і лікування. Вітчизняними ученими розроблена інактивована вакцина проти ентеровірусу серотипа 71. Відносно інших ентеровірусів вакцинопрофілактика відсутня. Лікування симптоматичне.

Конкретні цілі:

1. Вивчити загальну характеристику сімейства Picornaviridae.
2. Вивчити морфологію і антигенні властивості вірусу поліомієліту.
3. Ознайомитися з основними клінічними формами поліомієліту.
4. Вивчити методи лабораторної діагностики поліомієліту.
5. Ознайомитися з профілактикою, лікуванням і ускладненнями поліомієліту.
6. Вивчити морфологію і антигенні властивості вірусів Коксакі.
7. Вивчити методи лабораторної діагностики захворювань, викликаних вірусами Коксакі.
8. Вивчити морфологію і антигенні властивості вірусів ЕЧНО.
9. Ознайомитися з основними клінічними формами захворювань, викликаних ЕЧНО-вірусами.
10. Вивчити методи лабораторної діагностики захворювань, викликаних ЕЧНО-вірусами.
11. Ознайомитися з засобами специфічної і неспецифічної профілактики ЕЧНО-інфекцій.

Уміти:

1. Відрізнити здорову культуру клітин від культури, яка заражена вірусами.
2. Визначати цитопатичну дію вірусів на культуру клітин.
3. Методика постановки РГГА.

Теоретичні питання:

1. Загальна характеристика сімейства Picornaviridae.
2. Морфологія і антигенні властивості вірусу поліомієліту.
3. Клінічні прояви поліомієліту, ускладнення.
4. Лабораторна діагностика поліомієліту.
5. Лікування поліомієліту і специфічна профілактика.
6. Переваги і недоліки живої і убитої вакцин.
7. Морфологія і антигенні властивості вірусів Коксакі і ЕЧНО.
8. Варіанти клінічного перебігу захворювань, викликаних вірусами Коксакі і ЕЧНО.
9. Методи лабораторної діагностики захворювань, викликаних вірусами Коксакі.
10. Особливості лабораторної діагностики захворювань, викликаних ЕЧНО-вірусами.
11. Методи специфічної і неспецифічної профілактики.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Вивчення і зарисовка демонстраційних препаратів.
2. Розбір схеми лабораторної діагностики ентеровірусних інфекцій.
3. Заповнення протоколу.

Література:

1. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / Под ред. А. А. Воробьева. – М. : ООО «Медицинское информационное агентство», 2006. – 704 с.
2. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / Под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова. – М. : ООО «Медицинское информационное агентство», 2003. – 236 с.
3. Поздеев О. К. Медицинская микробиология / О. К. Поздеев. – [под ред. В. И. Покровского] – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 765 с.

Додаткова література:

1. Букринская А. Г. Вирусология / А. Г. Букринская. – М. : Медицина, 1986. – 336 с.
2. Шувалова Е. П. Инфекционные болезни / Е. П. Шувалова. – [5-е изд., перераб. и доп.]. – М. : Медицина, 2001. – 642 с.

Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті.

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається з вивчення демонстраційних препаратів і розбору схем лабораторної діагностики ентеровірусних інфекцій, заповнення протоколу.

В кінці заняття проводиться тестовий контроль і аналіз підсумкових результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. У дитини з гострою діареєю з вмісту кишечника були виділені віруси Коксаки групи А. Яку серологічну реакцію слід застосувати для визначення серовара вірусу?

- А. РЗК. В. РП в гелі. С. Реакцію кільцепреципітації.
D. РА. E. РГА.

2. При культивуванні вірусу поліомієліту на культурі тканини лаборант відзначив зміну кольору середовища культивування (так звана кольорова проба). Про що це свідчить?

- А. Культура тканин не придатна для подальших пасажів.
В. Початковий матеріал містив інші віруси.
С. Окрім вірусів в культурі тканин вирости бактерії.
D. Вірус поліомієліту нормально репродукується.
E. Вірус поліомієліту не репродукується.

3. У дитячу поліклініку для проведення планових щеплень мати принесла 3-х місячну дитину. Яка з приведених нижче вакцин використовується для профілактики поліомієліту?

- А. БЦЖ. В. АКДП. С. АДП-м. D. Себіна.
Е. Вакцина Чумакової і Смородинцевої.

4. У дитини, яка захворіла 3 дні тому, лікар запідозрив поліомієліт. Який матеріал необхідно узяти у хворого і який метод діагностики використовувати для підтвердження діагнозу?

А. Випорожнення для вірусологічного методу (зараження мишей-сосунків).

В. Випорожнення для вірусологічного методу (зараження культури клітин).

С. Змиви з носоглотки для вірусологічного методу (зараження мишей-сосунків).

D. Сироватку для вірусологічного методу (зараження мишей-сосунків).

Е. Сироватку для серологічного методу.

5. У дитяче інфекційне відділення поступила хвора дитина з попереднім діагнозом «асептичний менінгіт», викликаний ЕСНО-вірусом. Застосуванням якої серологічної реакції можна підтвердити або спростувати діагноз?

А. РН. В. РЗК. С. РГГА.

D. Все вищепераховане.

Е. Тільки А і С.

6. Від хворого на гостру кишкову інфекцію виділений вірус, що належить до роду ентеровірусів. Для встановлення серотипа вірусу використовують діагностичні сироватки. Які антитіла повинні містити ці сироватки?

А. До білка суперкапсидної оболонки.

В. До білка капсида.

С. До неструктурних білків вірусу.

D. До вірусних ферментів.

Е. До вірусних гемаглютининів.

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Вивчення характеристики сімейства Picornaviridae.

2. Вивчення таксономії, морфології і антигенної структури ентеровірусів.

3. Вивчення схеми лабораторної діагностики ентеровірусних інфекцій.

4. Методи специфічної профілактики

5. Проглядання демонстраційних препаратів.

6. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 5

Тема: Лабораторна діагностика сказу.

**Мета: Вивчення лабораторної діагностики і специфічної
профілактики сказу.**

Модуль 3. Загальна і спеціальна вірусологія.

Змістовний модуль 16. Спеціальна вірусологія.

Тема 9. Інші віруси РНК-геномів.

Актуальність теми. Сказ - вірусне захворювання, що протікає з важким ураженням нервової системи і закінчується, як правило, смертельним результатом.

Хвороба відома людству впродовж декількох тисячоліть. Вперше описана К. Цельсом в I ст. н.е. У 1885 р. Л. Пастер отримав і з успіхом використовував вакцину для порятунку людей, укушених скаженими тваринами. Вірусна природа хвороби доведена в 1903 р. П. Ремленже.

Сказ (синоніми: rabies, lyssa, hydrophobia - водобоязнь) - особливо небезпечна інфекційна хвороба людини і теплокровних тварин, що передається при контакті з інфікованою твариною (укус, ослюнення мікропошкоджень), характеризується ураженням ЦНС і смертельним результатом.

Таксономія. Збудник сказу - вірус, що містить РНК, відноситься до сімейства Rhabdoviridae (від греч. rhabdos - пруть), роду Lyssavirus.

Морфологія і хімічний склад. Віріони пульовидної форми, розміром 170х70 нм, складаються з серцевини, оточеної ліпопротеїдною оболонкою з шипіками глікопротеїдної природи. РНК - одонитчаста, мінус-нитьова.

Культивування. Вірус сказу культивують в мозковій тканині білих мишей, сірійських хом'яків, кроликів, щурів, морських свинок, овець і ін. У заражених тварин розвиваються паралічі кінцівок, потім вони гинуть. Вірус сказу може бути адаптований до первинних культур клітин, до клітин, що перевиваються, і курячих ембріонів. У цитоплазмі уражених вірусом клітин головного мозку тварин або культур тканини утворюються специфічні включення, вперше описані В. Бабешем (1892) і А. Негрі (1903) і тому названі тільцями Бабеша-Негрі. Включення сферичної або овальної форми, величиною від 0,5 до 20 мкм, добре забарвлюються кислими фарбниками, містять вірусний антиген, мають діагностичне значення.

Вірус патогенний для більшості теплокровних тварин і птахів. Розрізняють вуличний (циркулюючий в природі) і фіксований вірус сказу, підтримуваний в лабораторіях. Фіксований вірус не виділяється зі слиною і не може бути переданий під час укусу. Розмножується в різних тканинних

культурах (первинно трипсинізованих і що перевиваються, в культурах діплоїдних клітин людини або фібробластів ембріона хом'яка), а після адаптації - на курячих і качиних ембріонах, що використовують при отриманні антирабічних вакцин. Проникнення вірусу в клітини відбувається шляхом адсорбційного ендоцитоза - віріони виявляються у вигляді включень, оточених мембраною, адсорбованих на мікротрубочках і у складі лізосом.

Антигенна структура. У складі вірусу сказу виявлені серцевинні і поверхневі антигени. Глікопротеїдний антиген (білок шипіків) володіє вираженими імуногенними властивостями. Існують два віруси сказу, ідентичні за антигенними властивостями: дикий, циркулюючий серед тварин, патогенний для людини, названий вуличним вірусом, і фіксований вірус (*virus fixe*), отриманий Л. Пастером в лабораторних умовах шляхом тривалих пасажів вуличного вірусу через мозок кроликів. У зв'язку з втратою останнім вірулентності для людини Л. Пастер використовував цей вірус як антирабічну вакцину.

Резистентність. Вірус сказу малостійкий в навколишньому середовищі: швидко гине під дією сонячних і УФ-променів, дезинфікуючих засобів (фенол, хлорамін, формалін), чутливий до жиророзчинників і лужних розчинів, до висушування. Тривало зберігається при низькій температурі (-20 °C).

Вірус руйнується кислотами, лугами, нагріванням (при 56 °C інактивується протягом 15 хв, при кип'яченні - за 2 хв). Швидко інактивується сулемою (1:1000), лізолом (1-2 %), карболовою кислотою (3-5 %), хлораміном (2-3 %).

Епідеміологія. Сказ відомий з давніх часів. Це типова зоонозна інфекція, яка значно поширена на земній кулі. Всі теплокровні тварини можуть хворіти на сказ. Проте через особливості механізму передачі (через укуси) циркуляцію вірусу в природі забезпечують дикі і домашні м'ясоїдні тварини, головним чином собаки, вовки, лисиці, єнотовидні собаки, шакали, кішки. Природні вогнища сказу є повсюдно. Людина є випадковою ланкою в епідемічному процесі і не приймає участі в циркуляції вірусу в природі.

Вірус сказу накопичується і виділяється через слинні залози тварини під час хвороби і в останні дні інкубаційного періоду. Механізм передачі збудника - прямий контактний, в основному при укусах, у меншій мірі при рясному ослоненні шкіри, що має подряпини і садна. Роль хворої людини як джерела інфекції мінімальна, хоча слина її і містить вірус сказу. Є лише одиничні випадки зараження людини людиною. Описані випадки захворювання людей в результаті укусів зовні здоровою твариною, що продовжує залишатися такою протягом тривалого часу. Останніми

роками доведено, що крім контактного можливі аерогенний і трансплацентарний шляхи передачі вірусу. Описано декілька випадків зараження людей в результаті операції по пересадці рогової оболонки ока.

Патогенез і клінічна картина. Вірус сказу володіє вираженими нейротропними властивостями. З місця впровадження віруси поступають в ЦНС по периферичних нервових волокнах, розмножуються в ній, а потім розповсюджуються від центра, вражаючи всю нервову систему, зокрема нервові вузли деяких залізистих органів, особливо слинних залоз. У останніх віруси розмножуються і виділяються із слиною в навколишнє середовище.

Інкубаційний період при сказі у людини варіює від 7 днів до 1 року і більш залежно від локалізації і характеру пошкодження, а також вірулентності штаму. Найбільш коротка інкубація спостерігається при обширних укусах обличчя, голови, потім верхніх кінцівок і найбільш довга - при укусі в нижні кінцівки.

У клінічній картині сказу у людини розрізняють наступні періоди: передвісників (продромальний), збудження і паралічів. Захворювання починається з появи відчуття страху, неспокою, дратівливості, безсоння, загального нездужання, запальної реакції на місці укусу. У другий період хвороби різко підвищується рефлекторна збудливість, з'являються гідрофобія (водобоязнь), спазматичні скорочення м'язів глотки і дихальної мускулатури, що утрудняють дихання; посилюється слиновиділення, хворі збуджені, іноді агресивні. Через декілька днів виникають паралічі м'язів кінцівок, обличчя, дихальної мускулатури. Тривалість захворювання 3-7 днів. Летальність 100 %.

Виділяють 3 стадії хвороби: I - початкову (депресії), II - збудження, III - паралічів.

I стадія. Захворювання починається з появи неприємних відчуттів в області укусу (печіння, тягучі болі з іррадіацією до центру, свербіння, гіперестезія шкіри), хоча рана вже може повністю зарубцюватися. Іноді знов з'являються місцеві запальні явища, рубець стає червоним і припухає. При укусах в обличчя спостерігаються нюхові і зорові галюцинації. Температура тіла стає субфебрильною - частіше 37,2-37,3 °C. Одночасно виникають перші симптоми порушення психіки: нез'ясовний страх, туга, тривога, депресія, рідше - підвищена дратівливість. Хворий замкнутий, апатичний, відмовляється від їжі, погано спить, сон у нього супроводжується страхітливими сновидіннями. Початкова стадія триває 1-3 дні. Потім апатія і депресія змінюються неспокоєм, частішають пульс і дихання, виникає відчуття утруднення в грудях.

II стадія – збудження, що характеризується підвищеною рефлекторною збудливістю і різкою симпатикотонією. Найбільш яскравим клінічним симптомом сказу є водобоязнь (гідрофобія): при спробах пити виникають

хворобливі спастичні скорочення ковтальних м'язів і допоміжної дихальної мускулатури. Ці явища наростають в своїй інтенсивності так, що одне нагадування про воду або звук рідини, що ллється, викликає спазми м'язів глотки і гортані. Дихання стає галасливим у вигляді коротких судорожних вдихів.

На даний час різко загострюються реакції на будь-які подразники. Напад судом може бути спровокований подихом в обличчя струменя повітря (аерофобія), яскравим світлом (фотофобія) або гучним звуком (акустикофобія). Зіниці хворого сильно розширені, виникає екзофтальм, погляд спрямовується в одну крапку. Пульс різко прискорений, з'являється рясна болісна слинотеча (сіалорея), потовиділення. На висоті нападу виникає бурхливе психомоторне збудження (напади буйства, сказ) з лютими і агресивними діями. Хворі можуть ударити, укусити тих, що оточують, плюються, рвуть на собі одяг. Свідомість помрачається, розвиваються слухові і зорові галюцинації страхітливого характеру. Можлива зупинка серця і дихання. У проміжок між нападами свідомість зазвичай вияснюється, хворі можуть правильно оцінювати обстановку і розумно відповідати на питання. Через 2-3 дні збудження, якщо не наступила смерть на висоті одного з нападів, змінюється паралічами м'язів кінцівок, мови, обличчя.

Період паралічів пов'язаний з випаданням діяльності кори великого мозку і підкіркових утворень, відрізняється вираженим зниженням рухової і чутливої функцій. Судоми і напади гідрофобії припиняються. Що оточують часто помилково приймають цей стан за поліпшення стану хворого, але насправді це ознака близької смерті. Температура тіла підвищується до 40-42°C, наростає тахікардія, гіпотонія. Смерть настає через 12-20 год від паралічу серця або дихального центру. Загальна тривалість хвороби 5-8 днів, рідко дещо більше.

Іноді захворювання без передвісників відразу починається із стадії збудження або появи паралічів. У дітей сказ характеризується коротшим інкубаційним періодом. Напади гідрофобії і різкого збудження можуть бути відсутніми. Захворювання виявляється депресією, сонливістю, розвитком паралічів і колапсу. Смерть може наступити через добу після початку хвороби. Як варіанти перебігу виділяють бульбарні, паралітичні (типу Ландрі), менінгоенцефалітичні і мозочкові форми хвороби.

Імунітет. Природно набутий імунітет не вивчений, оскільки звичайне захворювання закінчується смертю. Штучно набутий імунітет виникає після проведення вакцинації людям, укушеним скаженими тваринами. Він обумовлений виробленням антитіл, що зберігаються протягом року, утворенням інтерферону, а також клітинними чинниками імунітету.

Лабораторна діагностика. Лабораторні дослідження проводять посмертно. Як досліджуваний матеріал використовують шматочки головного і спинного мозку, підщелепні слинні залози згідно правилам, передбаченим для роботи з особливо небезпечним інфекційним матеріалом.

Експрес-діагностика заснована на виявленні специфічного антигена за допомогою РІФ і ІФА і тілець Бабеша-Негрі. Виділяють вірус за допомогою біопроби на білих мишах.

Специфічна профілактика і лікування. Вакцини проти сказу були розроблені і запропоновані Л. Пастером. Вакцини, отримані з мозку заражених тварин - кроликів, овець, можуть викликати ускладнення, тому їх використовують рідко. У нашій країні застосовують антирабічну культуральну концентровану вакцину, отриману зі штаму Внуково-32 (походить від фіксованого вірусу Пастера), інактивовану УФ- або гамма-променями.

Лікувально-профілактичній вакцинації піддають осіб, укушених або ослонених хворими або підозрілими на сказ тваринами. Щеплення необхідно починати якомога раніше після укусу. У важких випадках застосовують комбіноване введення антирабічного імуноглобуліну і вакцини. Розробляються генно-інженерні антирабічні вакцини.

Лікування. Ефективних методів лікування не існує. Проводиться симптоматична терапія для зменшення страждань хворого. Хворого поміщають в затемнену, ізольовану від шуму, теплу палату. Застосування антирабічного імуноглобуліну за наявності клінічних симптомів хвороби неефективно.

Прогноз завжди несприятливий. Є описи одиничних випадків одужання пацієнтів, що отримали повний курс імунізації антирабічною вакциною і захворіли після його завершення.

Профілактика полягає в ліквідації захворюваності на сказ серед тварин і в попередженні хвороби у людей, що піддалися укусам інфікованих тварин. Проводять вакцинацію собак, знищують бродячих тварин. При укусах рекомендується промити рану теплою кип'яченою водою (з милом або без нього), а потім обробити її 70 % спиртом або спиртовою настоянкою йоду. Потім углиби рани і в м'які тканини, що знаходяться навколо рани, вводять антирабічну сироватку або антирабічний імуноглобулін. Все ці заходи, як і подальшу антирабічну вакцинацію, необхідно виконувати шойнайшвидше.

Щеплення проти сказу ефективні тільки в тому випадку, якщо їх починають не пізніше за 14-й день від моменту укусу. Розрізняють антирабічні щеплення за безумовними і умовними показаннями.

Конкретні цілі:

1. Ознайомитися з біологічними властивостями і класифікацією рабдовірусів.

2. Описувати епідеміологію і патогенез вірусу сказу.
3. Вивчити методи мікробіологічної діагностики вірусу сказу.
4. Ознайомитися з методами профілактики рабдовірусів.

Уміти:

1. Проводити диференціацію рабдовірусів.
2. Забирати матеріал для дослідження від пацієнтів із захворюваннями, викликаними рабдовірусами.
3. Виділяти і проводити ідентифікацію рабдовірусів.
4. Тракувати результати мікроскопічного дослідження головного мозку тварин, загинувших від сказу.
5. Виділяти тельця Негрі в мазках-відбитках головного мозку тварин, загинувших від сказу.
6. Тракувати результати серологічного дослідження сироватки хворих на сказ.

Теоретичні питання:

1. Систематичне положення і характеристика вірусу сказу.
2. Віруси вуличний і фіксований. Роботи Л. Пастера.
3. Резервуар вірусу в природі. Шляхи передачі вірусу людині.
4. Патогенез сказу і елементи клініки.
5. Лабораторна діагностика сказу.
6. Специфічна профілактика сказу.

Практичні завдання, які виконуються на занятті:

1. Вивчення схеми будови вірусу сказу.
2. Мікроскопія демонстраційних препаратів.
3. Вивчення імунобіологічних препаратів для діагностики сказу: імунофлюоресцируюча антирабічна сироватка для виявлення вірусу в реакції імунофлюоресценції.
4. Вивчення імунобіологічних препаратів для специфічної профілактики сказу:
 - а) інактивована культуральна антирабічна вакцина;
 - б) антирабічний імуноглобулін.
5. Розбір і запис схеми лабораторної діагностики сказу.
6. Мікроскопія і зарисовка демонстраційних препаратів.
7. Оформлення протоколу роботи.

Література:

1. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / Под ред. А. А. Воробьева. – М. : ООО «Медицинское информационное агенство», 2006. – 704 с.
2. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / Под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова. – М. : ООО «Медицинское информационное агенство», 2003. – 236 с.

3. Поздеев О. К. Медицинская микробиология / О. К. Поздеев. – [под ред. В. И. Покровского] – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 765 с.

Додаткова література:

1. Букринская А. Г. Вирусология / А. Г. Букринская. – М. : Медицина, 1986. – 336 с.

2. Шувалова Е. П. Инфекционные болезни / Е. П. Шувалова. – [5-е изд., перераб. и доп.]. – М. : Медицина, 2001. – 642 с.

Короткі методичні вказівки до роботи на практичному занятті.

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається з мікроскопії демонстраційних препаратів. Студенти замальовують мікропрепарати в альбом і дають необхідні пояснення. Записують схеми лабораторної діагностики.

В кінці заняття проводиться тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. У вірусологічну лабораторію поступив матеріал для дослідження (тканина мозку) від людини, яка померла від сказу. За допомогою якої з приведених реакцій можна виявити антиген вірусу сказу в мазках-відбитках зрізів мозку?

A. РІФ. B. РЗК. C. РГА. D. РП. E. РА.

2. При прямій РІФ на зрізі головного мозку собаки з підозрою на сказ виявлено свічення. Що визначається при даній реакції?

A. Віруси.
B. Антитіла.
C. Тільця Бабеша-Негрі.
D. Тільця Гуарнієрі.
E. Тільця Пашена.

3. Для приготування вакцин в цілях профілактики сказу використовують фіксований вірус. За якими з перерахованих властивостей відрізняється фіксований вірус сказу від вуличного?

A. Антигенним складом.
B. Розмірами.
C. Ступенем вірулентності.
D. Наявністю включень Гуарнієрі.
E. Утворенням екзотоксину.

4. В травматологічний пункт звернувся потерпілий з ранами після укусів, нанесених бродячим собакою, в ділянці голови (особливо небезпечна зона при зараженні сказом). Після первинної хірургічної обробки ран лікар призначив введення потерпілому антирабічної вакцини. Який препарат необхідно додатково ввести даному хворому?

- A. Протистафілококову плазму.
- B. Антирабічний імуноглобулін.
- C. Стафілококовий анатоксин.
- D. Протигангренозну сироватку.
- E. Гангренозний анатоксин.

5. Мисливця укусила лисиця в ділянку кисті. 10 років тому потерпілий отримав повний курс антирабічних щеплень. Якою повинна бути тактика лікаря для профілактики сказу в цьому випадку?

- A. Комбіноване введення антибіотиків і правцевого анатоксина.
- B. Комбіноване введення антибіотиків і правцевої сироватки.
- C. Комбіноване введення протиправцевого анатоксина і антирабічного імуноглобуліну.

D. Комбіноване введення антирабічного імуноглобуліну і антирабічної вакцини.

E. Комбіноване введення антибіотиків, протиправцевої сироватки, антирабічного імуноглобуліну і антирабічної вакцини.

7. Мисливець звернувся за медичною допомогою з приводу укусів на руках, заподіяних пораненою лисицею. Яку допомогу слід надати йому з метою специфічної профілактики сказу?

- A. Хірургічна обробка рани.
- B. Введення антибіотика.
- C. Обробка рани спиртовим розчином йоду.
- D. Введення антирабічного імуноглобуліну.
- E. Промивання рани мильним розчином.

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Вивчення схеми будови вірусу сказу.

2. Мікроскопія демонстраційних препаратів.

3. Вивчення імунобіологічних препаратів для діагностики сказу: імунофлюоресцируюча антирабічна сироватка для виявлення вірусу в реакції імунофлюоресценції.

4. Вивчення імунобіологічних препаратів для специфічної профілактики сказу:

- а) інактивована культуральна антирабічна вакцина;
 - б) антирабічний імуноглобулін.
5. Вивчення і запис схеми лабораторної діагностики сказу.
6. Зарисовка демонстраційних препаратів.
7. Оформлення протоколу роботи.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 6

Тема: Лабораторна діагностика герпесвірусних інфекцій.

Мета: Вивчення лабораторної діагностики герпесвірусних інфекцій.

Модуль 3. Загальна і спеціальна вірусологія.

Змістовний модуль 16. Спеціальна вірусологія.

Тема 11. Герпесвіруси.

Актуальність теми. Інфекція, викликана вірусом простого герпесу - одна з найпоширеніших вірусних інфекцій людини, що характеризується гарячковим станом і бульбашковими висипаннями, які найчастіше локалізуються на шкірі і слизових оболонках. Важливими особливостями герпетичної інфекції є довічне носійство вірусу і часті рецидиви хвороби.

Вірусна природа простого герпесу встановлена в 1912 р. У. Грютером.

Таксономія, морфологія, хімічний склад. Збудник простого герпесу – вірус, що містить ДНК, відноситься до сімейства Herpesviridae, роду Simplexvirus. За морфологією і хімічним складом не відрізняється від вірусів вітряної віспи і оперізувального герпесу.

Культивування. Вірус простого герпесу (ВПГ) культивують в курячих ембріонах, культурах клітин і організмі лабораторних тварин. На хоріоналантаїсній оболонці курячих ембріонів вірус утворює дрібні білі щільні вузлики-бляшки; у заражених культурах - викликає цитопатичний ефект: утворення гігантських багатоядерних клітин з внутрішньоядерними включеннями.

Антигенна структура. Вірус містить ряд антигенів, пов'язаних як з внутрішніми білками, так і з глікопротеїдами зовнішньої оболонки. Останні є основними імуногенами, що індукують вироблення антитіл і клітинний імунітет. Існує два серотипи вірусу: ВПГ типу 1 і ВПГ типу 2.

Резистентність. Вірус може виживати на поверхні предметів при кімнатній температурі протягом декількох годин, чутливий до УФ-променів, звичайних дезінфікуючих засобів, жиророзчинників, термолабільен.

Сприйнятливість тварин. Вірус простого герпесу патогенний для багатьох тварин, у яких викликає енцефаліт при введенні збудника в мозок або місцевий запальний процес при зараженні в око. У природних умовах тварини не хворіють.

Епідеміологія. Простий герпес - одна з найпоширеніших інфекцій, яка вражає різні вікові групи людей, частіше в осінньо-зимовий період. З'являються спорадичні випадки захворювання, іноді невеликі спалахи в сім'ях, дитячих колективах, лікарнях. Епідемій не спостерігається.

Джерелом інфекції є хворі і носії. Основний механізм передачі - контактний, аерогенний. Зараження відбувається при попаданні вірусів на пошкоджені шкірні покриви або слизисті оболонки.

Епідеміологія герпесу, викликаного вірусами типів 1 і 2, різна. ВПГ типу 1 передається через слину, заражені слиною руки і предмети побуту, а ВПГ типу 2 - статевим шляхом. Можливе зараження плоду через плаценту.

Патогенез і клінічна картина. За клінічними проявами розрізняють первинний і рецидивуючий герпес. Вхідними воротами збудника при первинній герпетичній інфекції є пошкоджені ділянки шкіри і слизових оболонок рота, очей, носа, сечостатевого тракту, де віруси репродукуються. Потім по лімфатичних судинах віруси потрапляють в кров і заносяться в різні органи і тканини.

Інкубаційний період при первинному герпесі складає в середньому 6-7 днів. Захворювання починається з печіння, свербіння, почервоніння, набряку на обмежених ділянках шкіри і слизових оболонок, потім на цьому місці з'являються бульбашкові висипання, наповнені рідиною. Іноді захворювання супроводжується підвищенням температури тіла і порушенням загального стану. При підсиханні бульбашок рубців не утворюється. Первинний герпес у новонароджених протікає важко і нерідко закінчується смертю. Проте у більшості людей первинна інфекція залишається нерозпізнаною, оскільки протікає безсимптомно.

Після первинної інфекції (явної і безсимптомної) 70-90 % людей залишаються довічними носіями вірусу, який зберігається в латентному стані в нервових клітинах чутливих гангліїв. Нерідко у носіїв з'являються рецидиви хвороби в результаті переохолодження, перегріву, менструації, інтоксикації, різних інфекційних захворювань, стресів, нервово-психічних розладів. Для рецидивуючого герпесу характерні повторні висипання на шкірі і слизових оболонках, нерідко в тих же місцях. Найбільш частою локалізацією рецидивуючого герпесу, викликаного типом ВПГ 1, є губи, крила носа, порожнина рота, кон'юктива очей. ВПГ типу 2 вражає сечостатеву систему і викликає герпес новонароджених. Доведена роль ВПГ типу 2 в розвитку раку шийки матки. Порівняно рідко зустрічаються генералізовані форми рецидивуючого герпесу, зокрема ураження нервової системи і внутрішніх органів.

Імунітет. В результаті первинної герпетичної інфекції в організмі утворюються сироваткові і секреторні антитіла, які обумовлюють імунітет до первинного герпесу, але не перешкоджають збереженню вірусу і виникненню рецидивів. Рецидивуючий герпес виникає при високому рівні антитіл до вірусу герпесу. Основне значення в розвитку рецидивуючого герпесу має стан клітинного імунітету.

Лабораторна діагностика. Матеріалом для дослідження є вміст герпетичних бульбашок, слина, зіскоби з рогової оболонки ока, кров, спинномозкова рідина, в летальних випадках шматочки головного і спинного мозку.

Експрес-діагностика полягає у виявленні гігантських багатоядерних клітин з внутрішньоядерними включеннями в мазках-відбитках з висипань, забарвлених за Романовським-Гімзою. Для диференціації від інших вірусів, що належать до цього сімейства, використовують РІФ, ІФА, РІА, ПЛР. Виділення вірусу проводять на курячих ембріонах, культурі клітин і на лабораторних тваринах (миші-сосунки), ідентифікують вірус за допомогою РІФ або РН. Останніми роками в діагностиці простого герпесу почали застосовувати моноклональні антитіла, що дає можливість визначити серотип вірусу. Для серодіагностики захворювання використовують РЗК, РН, РІФ, ІФА.

Специфічна профілактика і лікування. Для профілактики важких форм рецидивуючого герпесу в період ремісії застосовують багаторазове введення інактивованої, культуральної герпетичної вакцини. Вакцинація, а також застосування імуномодуляторів, наприклад реаферона, подовжують міжрецидивний період і полегшують перебіг подальших рецидивів. У гострому періоді з лікувальною метою використовують хіміотерапевтичні препарати (віразол, ацикловір, оксолінову, теброфенову, флореналову мазі, бонафтон), інтерферони і індуктори інтерферону.

Вірус цитомегалії

Цитомегалія - інфекційне захворювання, збудником якого є цитомегаловірус (ЦМВ) *Cytomegalovirus hominis* (від гр. *cytus* - клітина, *megas* - великий). Вірус викликає цитомегаловірусну інфекцію людини, що характеризується ураженням майже всіх органів (переважно слинних залоз) з утворенням в них гігантських клітин з внутрішньоядерними включеннями, протікає в різних формах, - від безсимптомного носійства до важкої генералізованої форми, що закінчується летальним результатом.

Вірус вперше виділений К. Смітом в 1956 р.

Таксономія, морфологія, антигенна структура. Збудник цитомегалії - вірус, що містить ДНК, відноситься до сімейства *Herpesviridae*, роду *Cytomegalovirus*.

Морфологія, хімічний склад типові для сімейства герпесвірусів. Діаметр вірусної частинки (віріона) близько 180 нм. В центрі віріона знаходиться дванадцятигранний нуклеокапсид, що містить генетичну інформацію, - двухнитчасту ДНК вірусу. Встановлено 2 антигенні серотипи вірусу.

Культивування. Цитомегаловірус репродукується в обмеженому числі первинних клітинних культур, та клітин, що перевиваються, викликаючи характерний цитопатичний ефект - утворення гігантських («цитомегало-

вірусних») клітин з внутрішньоядерними включеннями. Вірус патогенний для мавп.

Резистентність. Вірус термолабілен, чутливий до дезінфікуючих засобів і жиророзчинників.

Епідеміологія. Цитомегаловірусна інфекція значно поширена на земній кулі. Джерелом вірусу є хвора людина або носій. Вірус виділяється зі слиною, сечею, секретами організму, рідше фекаліями. Передбачається, що провідний механізм передачі інфекції - контактно-побутовий, можливі аерогенний і фекально-оральний механізми передачі. Цитомегаловірус володіє високою здатністю проникати через плаценту (вертикальна передача), викликаючи внутрішньоутробну патологію плоду.

Патогенез і клінічна картина. Патогенез не цілком з'ясований. Інфекція пов'язана з тривалим носійством вірусу, який в латентному стані зберігається в слинних залозах, нирках і інших органах. Активація латентної інфекції відбувається при імунodefіцитних станах, імунodeпресивній терапії. Вірус вражає ЦНС, кістковий мозок, нирки, печінку, клітини крові. У вагітних жінок цитомегалія може приводити до недоношеності, мертвонародження, розвитку аномалій у плоду.

Імунітет. У хворих незалежно від клінічної форми інфекції, а також у носіїв утворюються антитіла, які, проте, не перешкоджають збереженню вірусу в організмі і виділенню його в навколишнє середовище. Інтенсивність розвитку хвороби знаходиться під контролем клітинної імунної системи господаря.

Лабораторна діагностика. Обстеженню на цитомегалію в першу чергу підлягають діти з ураженням ЦНС і природженими вадами, а також жінки з несприятливим перебігом вагітності. Досліджуваний матеріал - слина, сеча, мокрота, спинномозкова рідина, кров, пунктат печінки.

Діагностика заснована на виявленні в досліджуваному матеріалі під мікроскопом «цитомегалічних» клітин, а також виявленні антитіл класу IgM за допомогою РІФ, ІФА, РІА. Вірус виділяють в культурі клітин, ідентифікують за морфологічними змінами заражених клітин і за допомогою РН. Експрес-діагностика - РІФ з моноклональними антитілами. Застосовують також методи генодіагностики: ПЛР і гібридизацію.

Специфічна профілактика і лікування. Розроблена жива атенуйована вакцина. Для лікування застосовують хіміотерапевтичні препарати (ганцикловір, фоскарнет натрію), імуномодулятори, інтерферон.

Вірус вітряної віспи і оперізувального герпесу

Вірус викликає два інфекційні захворювання:

1) вітряну віспу, що виникає переважно у дітей в результаті екзогенного зараження;

2) оперізувальний герпес (herpes zoster) - ендемічну інфекцію, що розвивається частіше у дорослих, що перенесли в дитинстві вітряну віспу.

Захворювання розрізняються також по локалізації бульбашкових висипань на шкірі і слизових оболонках. Вірус відкритий в 1911 р.

Таксономія. Вірус вітряної віспи і оперізувального герпесу містить ДНК, відноситься до сімейства Herpesviridae (від греч. herpes - повзуча), роду Varicellavirus.

Морфологія, хімічний склад, антигенна структура. Віріони мають овальну форму діаметром 120-179 нм, складаються з серцевини, що містить лінійну двунитчасту ДНК, і зовнішньої ліпопротеїдної оболонки з шипіками глікопротеїдної природи. Розрізняють внутрішні серцевинні і зовнішні антигени. Антигенні варіанти вірусу не виявлені.

Культивування. Вірус репродукується в первинних культурах клітин та клітинах, що перевиваються, з цитопатичним ефектом (симпласти) і утворенням внутрішньоядерних включень.

Резистентність. Вірус малостійкий в навіколишньому середовищі, термолабільен, чутливий до жиророзчинників і звичайних дезінфікуючих засобів.

Сприйнятливості тварин. Вірус непатогенний для лабораторних тварин.

Епідеміологія. Вітряна віспа поширена повсюдно, сприйнятливості до збудника дуже висока. Епідемічні спалахи з'являються в осінньо-зимовий період, головним чином в організованих колективах серед дітей дошкільного віку. Можуть хворіти дорослі. Джерело інфекції - тільки хвора людина. Механізм передачі - аерогенний. Виділення вірусів в навіколишнє середовище відбувається при порушенні цілісності бульбашкових висипань.

Оперізувальний герпес вражає в основному дорослих, носить спорадичний характер, не має вираженої сезонності. Хворі на оперізувальний герпес можуть бути джерелом вітряної віспи у дітей.

Патогенез і клінічна картина. Вхідними воротами для збудника є слизова оболонка дихальних шляхів, де віруси розмножуються, потім проникають в кров, вражаючи епітелій шкіри і слизових оболонок (дерматотропізм).

Інкубаційний період при вітряній віспі складає 14-21 день. Захворювання характеризується підвищенням температури тіла і бульбашковим висипом на тілі і слизових оболонках рота, зіву, вельми схожим на висипання при натуральній віспі (звідси назва хвороби). Після відпадання кірок рубці не залишаються. Ускладнення (пневмонії, енцефаліт і ін.) бувають рідко.

Оперізувальний герпес виникає у людей, що перенесли в дитячому віці вітряну віспу. Вірус може тривало зберігатися в нервових клітинах міжхребетних вузлів і активізується в результаті захворювань, травм і інших чинників, що ослаблюють імунітет. Захворювання характеризується лихоманкою, бульбашковими висипаннями у вигляді обруча по ходу уражених (частіше міжреберних) нервів, больовим синдромом.

Імунітет. Після перенесеної вітряної віспи формується довічний імунітет, який, проте, не перешкоджає збереженню вірусу в організмі і виникненню у деяких людей рецидивів оперізувального герпесу.

Лабораторна діагностика. Матеріалом для дослідження є вміст висипань, виділень із носоглотки, кров.

Експрес-діагностика полягає у виявленні під світловим мікроскопом гігантських багатоядерних клітин - симпластів з внутрішньоядерними включеннями в мазках-відбитках з висипань, забарвлених за Романовським-Гімзою, а також специфічного антигена в РІФ із моноклональними антитілами. Виділяють вірус в культурі клітин, ідентифікують за допомогою РН і ІФА. Для серодіагностики використовують РН, ІФА, РЗК.

Специфічна профілактика і лікування. Активна імунізація не проводиться, хоча розроблена жива вакцина. У вогнищах вітряної віспи ослабленим дітям показано застосування імуноглобуліну. Для лікування оперізувального герпесу використовують препарати ацикловіра, інтерферони і імуномодулятори. Елементи висипу обробляють діамантовим зеленим або перманганатом калію.

Вірус Епштейна-Барр

Вірус Епштейна-Барр (ВЕБ) викликає лімфопроліферативні хвороби, а також інфекційний мононуклеоз, що характеризується інтоксикацією, ураженням піднебінних і глоткових мигдалин, збільшенням лімфовузлів, печінки, селезінки, змінами в крові.

Таксономія. ВЕБ (вірус герпесу людини типу 4) відноситься до сімейства *Herpesviridae* роду *Lymphocryptovirus*.

Морфологія, хімічний склад, антигенна структура. ВЕБ має ядерні антигени, латентні протеїни, латентні мембранні протеїни і дві маленькі Епштейна-Барр-кодовані молекули РНК. Ядерні антигени і латентні протеїни є ДНК-зв'язуючими білками, що вважаються основними для розвитку інфекції.

Епідеміологія. Захворювання малоконтагіозно. Джерелом інфекції є хвора людина і вірусоносії. Основний шлях передачі - повітряно-краплинний, рідше трансмісивний або статевий, при контакті через слину. Антитіла до вірусу є у більшості населення.

Патогенез і клінічна картина. ВЕБ викликає розмноження В-лімфоцитів і персистує в них; обумовлює латентну інфекцію в лімфоїдній

тканині, епітеліальних клітинах рота і глотки, слинних залоз. ВЕБ викликає безсимптомну, хронічну або гостру інфекцію, а також лімфопроліферативні хвороби:

1. Інфекційний моноклеоз характеризується високою лихоманкою, нездужанням, фарингітом, лімфаденопатією, спленомегалією. Тривалість інкубаційного періоду складає 30-50 діб у дорослих і 10-40 діб у дітей.

2. Хронічна інфекція може розвиватися як циклічна рекурентна хвороба. Супроводжується низькою лихоманкою, підвищеною стомлюваністю, головним болем і запаленням горла.

3. Лімфопроліферативні хвороби також можуть індукуватися ВЕБ. Вірус є мітогеном для В-лімфоцитів. Сприяє розвитку пухлин - лімфоми Беркітта, неберкітської лімфоми, носоглоткової карциноми.

4. Волосиста оральна лейкоплакія - характерне для СНІДу ураження слизової оболонки рота.

Імунітет. Гуморальний, клітинний, довічний. Повторні захворювання не описані.

Лабораторна діагностика. До теперішнього часу не розроблені методи виділення вірусу в культурах клітин, і основу діагностики складає виявлення специфічних антитіл до протеїнів вірусу; серед запропонованих методів найбільш адекватна реакція непрямой імуофлюоресценції (реакція Хенле), що дозволяє визначити наявність антитіл (IgM, IgG, IgA) до капсидних, некапсидних «ранніх» і ядерних антигенів. Деяку інформацію можна отримати, визначаючи наявність гетерофільних антитіл (краплинний тест на інфекційний моноклеоз) і виявляючи атипові моноклеари в периферичній крові. Для виявлення вірусної ДНК в трансформованих клітинах застосовують метод ДНК-гібридизації.

Специфічні засоби терапії відсутні; лікування симптоматичне.

Конкретні цілі:

1. Вивчити загальну характеристику сімейства Herpesviridae.
2. Вивчити класифікацію сімейства Herpesviridae.
3. Ознайомитися з основними клінічними формами герпесвірусних інфекцій.
4. Вивчити методи лабораторної діагностики герпесвірусних інфекцій.
5. Ознайомитися з профілактикою, лікуванням і ускладненнями герпесвірусних інфекцій.
6. Особливості перебігу герпесвірусних інфекцій.

Уміти:

1. Провести реакцію зв'язування комплекменту.
2. Володіти методикою постановки реакції нейтралізації.

Теоретичні питання:

1. Загальна характеристика сімейства Herpesviridae.
2. Морфологія і антигенні властивості вірусів сімейства Herpesviridae.
3. Класифікація герпесвірусів.
4. Клінічні прояви герпесвірусної інфекції, ускладнення.
5. Лабораторна діагностика ВПГ-1 і ВПГ-2.
6. Лабораторна діагностика вітряної віспи.
7. Лабораторна діагностика інфекційного мононуклеозу.
8. Лікування і специфічна профілактика герпесвірусних інфекцій.

Практичні завдання, що виконуються на занятті:

1. Вивчення і зарисовка демонстраційних препаратів.
2. Розбір схеми лабораторної діагностики герпесвірусних інфекцій.
3. Заповнення протоколу.

Література:

1. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / Под ред. А. А. Воробьева. – М. : ООО «Медицинское информационное агенство», 2006. – 704 с.
2. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / Под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова. – М. : ООО «Медицинское информационное агенство», 2003. – 236 с.
3. Поздеев О. К. Медицинская микробиология / О. К. Поздеев. – [под ред. В. И. Покровского] – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 765 с.

Додаткова література:

1. Букринская А. Г. Вирусология / А. Г. Букринская. – М. : Медицина, 1986. – 336 с.
2. Шувалова Е. П. Инфекционные болезни / Е. П. Шувалова. – [5-е изд., перераб. и доп.]. – М. : Медицина, 2001. – 642 с.

Короткі методичні вказівки до практичного заняття:

На початку заняття проводиться перевірка рівня знань студентів по темі. Самостійна робота складається з вивчення демонстраційних препаратів і розбору схем лабораторної діагностики герпесвірусних інфекцій, заповнення протоколу.

В кінці заняття проводиться тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. У дитячому саду спостерігалось декілька випадків захворювань дітей. Клінічна картина характеризувалася підвищенням температури і появою в зіві і на шкірі везикульозного висипу. Попередній діагноз - вітряна віспа. Який матеріал необхідно направити у вірусологічну лабораторію для проведення експрес-діагностики?

- A. Мокроту. В. Сечу. С. Змиви з зіва і носа.
 D. Кров. Е. Вміст везикул.
2. У студента з Африки виявлена лімфома Беркіта. Який з перерахованих герпесвірусів найімовірніше є етіологічним чинником захворювання?
 A. ВПГ-1. В. ВПГ-2. С. ЦМВ.
 D. Вірус Епштейна-Барр. Е. Вірус оперізувального лишаю.
3. У студента, госпіталізованого в інфекційне відділення в перші дні захворювання, запідозрили інфекційний мононуклеоз. Назвіть результат лабораторного дослідження, який підтвердив діагноз в день госпіталізації?
 A. Виявлення антитіл до ЦМВ. В. Виявлення IgM до ЦМВ.
 С. Виявлення 4-х разового збільшення титру антитіл до вірусу Епштейна-Барр.
 D. Виявлення IgM до вірусу Епштейна-Барр.
 Е. Виявлення вірусу простого герпесу.
4. У культурі клітин фібробластів ембріона людини був виділений вірус, який ідентифікували як varicella-zoster. Яка серологічна реакція була застосована для ідентифікації?
 A. РА. В. РЗК. С. РГА. D. РГГА. Е. ІФА.
5. Для підтвердження інфекції, викликаной ВПГ-2, проводять мікроскопіювання досліджуваного матеріалу з визначенням крупних багатоядерних клітин. Як називається даний вид діагностики?
 A. Непряма РІФ. В. Проба Цанка. С. Проба Пірке.
 D. ПЛР. Е. Кольорова проба.
6. Які з приведених нижче реакцій застосовують для серологічної діагностики ВПГ -2?
 A. РЗК. В. РГГА. С. РА. D. РНГА. Е. Вірно все.

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Вивчення загальної характеристики і класифікації сімейства Herpesviridae.
2. Ознайомлення з основними клінічними формами герпесвірусних інфекцій.
3. Вивчення методів лабораторної діагностики герпесвірусних інфекцій.
4. Ознайомлення з особливостями перебігу, профілактикою, лікуванням і ускладненнями герпесвірусних інфекцій.
5. Вивчення і зарисовка демонстраційних препаратів.
6. Розбір і зарисовка схеми лабораторної діагностики герпесвірусних інфекцій.
7. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 7

Тема: Лабораторна діагностика арбовірусних інфекцій.
Мета: Освоєння методів лабораторної діагностики захворювань, викликаних арбовірусами.

Модуль 3. Загальна і спеціальна вірусологія.

Змістовний модуль 11. Спеціальна вірусологія.

Тема 7. Лабораторна діагностика арбовірусних інфекцій.

Актуальність теми. Арбовіруси (від англ. Arthropod borne viruses - віруси, що передаються членистоногими) - численна екологічна група вірусів, циркулюючих в природних вогнищах між сприйнятливими хребетними тваринами і кровосасальними членистоногими.

Таксономія. Арбовіруси не є єдиною таксономічною групою, а включають представників з різних сімейств. Найбільше число арбовірусів відноситься до сімейств Togaviridae (більше 30 представників), Flaviviridae (близько 60), Bunyaviridae (близько 200), Reoviridae (60), Rhabdoviridae (близько 50). В даний час відомо близько 450 арбовірусів, число яких постійно росте за рахунок відкриття нових представників. Близько 100 з них здатні викликати захворювання у людей. Найбільше значення в патології людини мають віруси кліщового енцефаліту, японського енцефаліту, Омської геморагічної лихоманки, Кримської геморагічної лихоманки, жовтої лихоманки, лихоманки Денге, москітної (флеботомної) лихоманки.

Морфологія, хімічний склад, антигенна структура. Залежно від таксономічного положення арбовіруси можуть мати сферичну або рідше кулевидну (рабдовіруси) форму; розмір вірусів від 40 до 100 нм. Складаються з РНК і білкового капсида, оточеного зовнішньою ліпопротеїдною оболонкою, на поверхні якої є шипіки, представлені глікопротеїдами. Віруси мають групоспецифічні антигени, пов'язані з нуклеокапсидом, і видоспецифічні антигени глікопротеїдної природи. До теперішнього часу відомо близько 70 антигенних груп арбовірусів. Велика частина арбовірусів володіє гемаглютинуючими властивостями.

Культивування. Арбовіруси культивують в організмі новонароджених білих мишей, в культурах клітин (первинних і таких, що перевиваються), іноді в курячих ембріонах. У мишей-сосунків при зараженні в мозок розвивається гостра інфекція з ураженням ЦНС, яка закінчується паралічами кінцівок і загибеллю тварин. Цитопатичний ефект спостерігається тільки в деяких культурах клітин.

Резистентність. Арбовіруси чутливі до ефіру і інших жиророзчинників, формаліну, низьких значень рН, УФ-опроміненню, інактивуються при 56-

60 °C протягом 30 хв. Тривало зберігаються в замороженому і ліофілізованому стані.

Епідеміологія. Арбовіруси значно поширені на земній кулі, ареал звичай обмежений зоною проживання переносників. Резервуаром арбовірусів в природі є теплокровні і холонокровні тварини, особливо птахи, гризуни і кажани. Основний механізм передачі - кров'яний трансмісивний (через укуси інфікованого переносника - кровосалального членистоногого). Специфічними переносниками арбовірусів є комари, кліщі, москіти, мокреці. Деякі види членистоногих здатні до тривалого довічного зберігання збудника і передачі його потомству, тобто виконують роль природного резервуару арбовірусів. За деяких умов арбовіруси можуть передаватися через кровосалальних членистоногих від людини до людини. Сезонність захворювань пов'язана з періодом активності переносника.

У ряді випадків можливі інші механізми і шляхи передачі цих вірусів - аерогенний, аліментарний (через інфіковані харчові продукти), контактний (при попаданні крові хворих на пошкоджену шкіру). У лабораторних умовах зараження може відбутися в результаті вдихання вірусного аерозоля при високій концентрації вірусів в повітрі, тому робота з арбовірусами повинна проводитися з дотриманням спеціального захисного режиму. Арбовіруси можуть викликати епідемічні спалахи і спорадичні випадки захворювання.

Патогенез і клінічна картина. Після укусу кровосалальним членистоногим збудник з током крові заноситься в регіонарні лімфатичні вузли, де відбувається його первинна репродукція, потім він потрапляє в кров (вірусемія). Далі віруси можуть вражати клітини центральної нервової системи, кровоносні капіляри шкіри, слизових оболонок, а також внутрішні органи і тканини (печінку, селезінку, нирки і ін.). У патогенезі арбовірусних інфекцій значну роль грають імунологічні реакції з розвитком реакції ГЗТ.

Клінічна картина арбовірусних інфекцій характеризується різноманітністю симптомів і форм прояву - від важких випадків з летальним результатом до безсимптомних форм. Виділяють три групи синдромів:

- 1) системні лихоманки, іноді з висипом і ураженням суглобів, що протікають доброякісно;
- 2) геморагічні лихоманки;
- 3) енцефаліт, що характеризується важким перебігом і високою летальністю.

Імунітет. Після перенесеного захворювання формується стійкий гуморальний типоспецифічний імунітет.

Лабораторна діагностика. У зв'язку з високою небезпекою лабораторного зараження арбовірусами аерогенним шляхом робота з ними може

проводитися тільки в спеціально обладнаних лабораторіях. Матеріалом для дослідження служать кров, спинномозкова рідина, в летальних випадках - матеріал зі всіх органів. Для діагностики деяких арбовірусних інфекцій розроблені експрес-методи - РІФ, ІФА, РІА, РНГА, вживані для виявлення вірусного антигена. Універсальним методом виділення арбовірусів є зараження новонароджених (1-3-денних) мишей в мозок. При деяких арбовірусних інфекціях (лихоманка Денге) використовують культури клітин. Виділений вірус ідентифікують за допомогою РЗК, РГГА і РН. Ці ж реакції застосовують для серодіагностики арбовірусних інфекцій.

Специфічна профілактика і лікування. Для створення активного імунітету проти ряду арбовірусних інфекцій використовують інактивовані формаліном вакцини. Єдиним виключенням є жива вакцина проти жовтої лихоманки. Для лікування деяких арбовірусних інфекцій використовують також препарати рібавіріна, інтерферона і ін.

Вірус кліщового енцефаліту

Кліщовий енцефаліт - природно-осередкова трансмісивна (що передається кліщами) вірусна інфекція, що характеризується переважним ураженням центральної нервової системи. Захворювання відрізняється поліморфізмом клінічних проявів і тяжкістю перебігу (від легких стертих форм до важких прогредиєнтних).

В даний час кліщовий енцефаліт реєструється в Сибіру, на Дальньому Сході, на Уралі, в Білорусі, а також в центральних областях Росії.

Етіологія. Вірус кліщового енцефаліту (КЕ) відноситься до сімейства *Flaviviridae*, роду *Flavivirus* (від лат. *flavus* - жовтий). Виділяють три різновиди збудника - далекосхідний підвид, центрально-європейський підвид і збудник двохвильового менингоенцефаліту. Віріони вірусу кліщового енцефаліту мають сферичну форму з діаметром 40-50 нм. Внутрішнім компонентом є нуклеокапсид. Він оточений зовнішньою ліпопротеїдною оболонкою, в яку занурені шипики, що складаються з глікопротеїда, що володіє гемаглютинуючими властивостями. Нуклеокапсид містить одиничну частину РНК.

Епідеміологія. Кліщовий енцефаліт відноситься до групи природно-осередкових хвороб людини. Основним резервуаром і переносником вірусу в природі є іксодові кліщі - *Ixodes persulcatus*, *Ixodes ricinus* з трансвавіальною передачею. Додатковим резервуаром вірусу є гризуни (заєць, їжак, бурундук, польова миша), птахи (дрізд, щиголь, чечітка, зяблик), хижаки (вовк). Для захворювання характерна строга весінньо-літня сезонність захворювання. Частіше хворіють особи у віці 20-40 років. Основним шляхом інфікування людини є трансмісивна передача через укуси кліщів. Можлива також передача інфекції аліментарним шляхом при споживанні сирого молока кіз і корів, а також при роздавлюванні кліща у момент його

видалення з тіла людини і, нарешті, повітряно-краплинним шляхом при порушенні умов роботи в лабораторіях.

Патогенез. Інфекційний процес розвивається унаслідок впровадження нейротропного вірусу і взаємодії його з організмом людини. Вірус кліщового енцефаліту проникає в організм людини в природних умовах через шкіру при присмоктуванні кліща або через сире молоко домашніх тварин.

Після присмоктування кліща вірус розповсюджується гематогенно і швидко проникає в мозок, фіксуючись тут клітинами. Паралельно з накопиченням вірусу розвиваються запальні зміни судин і оболонок мозку. Відповідність місця укусу кліща подальшій локалізації сегментарних розладів указує на можливість лімфогенного шляху проникнення вірусу в центральну нервову систему (ЦНС). В окремих випадках переважає той або інший шлях, що відображається в клінічних особливостях кліщового енцефаліту. Виникнення менінгеальних і менінгоенцефалітичних синдромів відповідає гематогенному, а поліомієлітичних і радікулоневритичних - лімфогенному шляху розповсюдження вірусу. Інвазія нервової системи можлива також і невральним шляхом за допомогою доцентрового розповсюдження вірусу через нюховий тракт. Рідкість ураження нижніх кінцівок при кліщовому енцефаліті не відповідає частоті присмоктування кліщів в шкірних областях, інервуємих поперековими і крижовими сегментами спинного мозку, що указує на відому тропність вірусу до клітин шийних сегментів і їх аналогів в бульбарних відділах довгастого мозку.

Симптоми і перебіг. У хворих спостерігаються загальні інфекційні прояви хвороби, що характеризуються лихоманкою і іншими ознаками синдрому загальної інфекційної інтоксикації. Інкубаційний період кліщового енцефаліту триває в середньому 7-14 діб з коливаннями від однієї доби до 30 днів. У ряду хворих початку захворювання передує продромальний період, що триває 1-2 дні і що виявляється слабкістю, нездужанням, розбитістю; іноді з'являються легкі болі в області м'язів ший і плечового поясу, болі в поперековій ділянці у вигляді ломоти і відчуття оніміння, головний біль.

Лабораторним підтвердженням діагнозу служить наростання титру антитіл, що виявляється за допомогою РЗК, РГГА, РПГА і реакції нейтралізації. Діагностичним є наростання титру антитіл в 4 рази.

Лікування проводять за загальними принципами незалежно від профілактичних щеплень, що проводяться раніше, або застосування з профілактичною метою специфічного гама-глобуліна.

Профілактика і заходи у вогнищі. Знищення і запобігання укусам кліщів. Протягом першої доби після присмоктування кліща - екстрена профілактика: донорський імуноглобулін (титр 1:80 і вище) внутрішньом'язово в дозі 1,5 мл дітям до 12 років, 2 мл - від 12 до 16 років, 3 мл - особам у

віці 16 років і старше. Для специфічної профілактики застосовують інактивовану культуральну сорбовану рідку вакцину.

Вірус японського енцефаліту

Японський енцефаліт - (encephalitis japonica, Japanese encephalitis) гостре інфекційне ендемічне захворювання з переважним ураженням нервової системи, що викликається нейтротропними вірусами, переносниками яких служать комари. Резервуаром вірусу в природі служать тварини і птахи. Японський енцефаліт (ЯЕ) є однією з найбільш важких трансмісивних нейроінфекцій людини.

Етіологія. Розміри вірусу не перевищують 15-22 мкм. Вельми стійкий в зовнішньому середовищі. Кип'яченням убивається протягом 2 год. Спирт, ефір і ацетон мають пригнічуючу дію на активність вірусу лише через 3 дні. При негативних температурах може зберігатися до 395 днів.

Епідеміологія. Окрім людини, сприйнятливими до вірусу японського енцефаліту є білі миші, мавпи, коні, корови, кози, вівці і т.д.

Зараження людини відбувається в період кровососання на неї комарів *Culex pipiens*, *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes togoi*, *Aedes japonicus*. Для японського енцефаліту характерна сезонність, зв'язана з часом виплода комарів. Хворіють переважно люди молодого віку, що працюють в заболочених місцях.

Патогенез. Розвиток захворювання перш за все залежить від стану організму, його реактивних властивостей, що визначають ступінь опірності до вірусу, а також від кількості введеного вірусу, його вірулентності і штамових властивостей.

Розповсюдження збудника в організмі може відбуватися як гематогенним, так і невральним шляхом. Проникність гематоенцефалічного бар'єру для вірусу залежить від багатьох чинників, в першу чергу, від перегріву організму, при якому захворювання розвивається швидше.

Подолавши гематоенцефалічний бар'єр, вірус проникає в паренхіму мозку, де в основному і відбувається його розмноження. При важких формах захворювання відбувається генералізація інфекції, репродукція вірусу як в нервовій системі, так і поза нею.

Інкубаційний період хвороби від 5 до 15 днів. Захворювання починається раптово з бурхливо нарастаючих загальноінфекційних симптомів. При цьому багато хворих можуть назвати точний час початку свого захворювання. У перший день хвороби виникає фебрильна лихоманка, що досягає максимуму (до 40 °C) до другого дня і продовжується протягом 7-10 днів. Тяжкість перебігу хвороби і поліморфізм її проявів обумовлені особливостями ураження мозку. Перебіг японського енцефаліту характеризується коротким гострим періодом. Симптоми хвороби досягають найбільшої інтенсивності на 3-5-у добу від початку хвороби. Летальність

складає 40-70 %, переважно в перший тиждень хвороби. Що залишилися в живих видужують дуже поволі, при тривалих астеничних скаргах.

Лабораторна діагностика. Відомо, що в країнах колишнього СНД захворювання можливі лише з кінця серпня в південних районах Примор'я. У холодну пору року випадків японського енцефаліту не зареєстровано.

Діагностика ґрунтується на результатах вірусологічних досліджень (виділення вірусу з крові, сечі і ліквора або мозку померлих в гострому періоді хвороби). Слід взяти до уваги, що після десятого дня хвороби виділити вірус не вдається. Для діагностики також широко використовують імунологічні методики - виявлення специфічних антитіл у крові. При цьому вирішального значення набуває дослідження парних сироваток.

Окрім РЗК при імунологічній діагностиці японського енцефаліту використовують реакцію гальмування гемаглютинації (РГГА) і реакцію нейтралізації (РН).

Лікування. Терапія японського енцефаліту є значною мірою симптоматичною. Для імунізації використовується високоочищена інактивована мозкова вакцина.

Конкретні цілі:

1. Ознайомитися з біологічними властивостями і класифікацією арбовірусів.
2. Описувати епідеміологію і патогенез кліщового енцефаліту.
3. Вивчити методи лабораторної діагностики кліщового енцефаліту.
4. Ознайомитися з методами профілактики кліщового енцефаліту.

Уміти:

1. Проводити диференціацію арбовірусів.
2. Забирати матеріал для дослідження від хворих із захворюваннями, викликаними арбовірусами.
3. Виділяти і проводити ідентифікацію арбовірусів.
4. Тракувати результати мікробіологічного дослідження клітинних культур в нормі і з ЦПД арбовірусів.
5. Тракувати результати серологічного дослідження сироватки хворого на кліщовий енцефаліт.

Теоретичні питання:

1. Загальна характеристика арбовірусів. Класифікація. Антигени. Культивування. Чутливість до фізичних і хімічних чинників.
2. Основні представники патогенних для людини флавівірусів - віруси кліщового і японського енцефаліту, жовтої і омської геморагічних лихоманок, лихоманки Денге. Особливості патогенезу. Природна вогнищевість.

3. Вірус кліщового енцефаліту. Біологічні властивості, екологічні варіанти збудника. Розповсюдження в природі. Механізм передачі збудника людині. Патогенез і імуногенез захворювання.

4. Роль вітчизняних учених у вивченні флавівірусних інфекцій (Л.А. Зільбер, М.П. Чумаків, А.К. Шубладзе, Е.Н. Льовковіч і ін.).

5. Мікробіологічна діагностика вірусного енцефаліту.

6. Специфічна профілактика і лікування.

Практичні завдання, що виконуються на занятті:

1. Мікроскопія мікропрепаратів з клітинних культур в нормі і з ЦПД арбовірусів.

2. Зарисовка демонстраційних мікропрепаратів в протокол.

3. Оформлення протоколу.

Література:

1. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / Под ред. А. А. Воробьева. – М. : ООО «Медицинское информационное агенство», 2006. – 704 с.

2. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / Под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова. – М. : ООО «Медицинское информационное агенство», 2003. – 236 с.

3. Поздеев О. К. Медицинская микробиология / О. К. Поздеев. – [под ред. В. И. Покровского] – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 765 с.

Додаткова література:

Букринская А. Г. Вирусология / А. Г. Букринская. – М. : Медицина, 1986. – 336 с.

Короткі методичні вказівки до практичного заняття:

На початку заняття проводиться перевірка рівня знань студентів по темі. Самостійна робота складається з вивчення методів мікробіологічної діагностики арбовірусів. Студенти вивчають схему виділення вірусу кліщового енцефаліту на клітинних культурах і лабораторних тваринах, знайомляться з методами ідентифікації вірусу за допомогою реакції нейтралізації. Далі студенти вчаться трактувати результати серологічного дослідження сироватки хворих на кліщовий енцефаліт. Потім студенти замальовують мікропрепарати і дають необхідні пояснення. До складу самостійної роботи входить також мікроскопія демонстраційних препаратів і їх зарисовка, заповнення протоколу. В кінці заняття проводиться тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. Відомо, що весінньо-літній енцефаліт відносять до інфекцій, яким характерна природна вогнищевість. Які шляхи передачі цього захворювання є найбільш вірогідними в природних вогнищах?

А. Тільки трансмісивний. В. Аліментарний і трансмісивний.

- С. Парентеральний і трансмісивний.
 D. Повітряно-краплинний. Е. Контактний і трансмісивний.
2. Відомо, що екологічна група «арбовіруси» об'єднує віруси декількох сімейств. Визначите, які сімейства вірусів відносяться до цієї групи:
 A. Paramyxoviridae, Rabdoviridae. B. Coronaviridae, Flaviviridae.
 C. Flaviviridae, Bunyaviridae. D. Picornaviridae, Flaviviridae.
 E. Rabdoviridae, Flaviviridae.
3. У вірусологічну лабораторію прийшов матеріал від хворого (спинно-мозкова рідина) для підтвердження діагнозу весінньо-літнього енцефаліту. Лікар-вірусолог для виділення вірусу використовував курячі ембріони. Які курячі ембріони необхідно для цього використовувати?
 A. 4-5-денні. B. 8-9-денні. C. 2-3-денні.
 D. 14-15-денні. E. 16-17-денні.
4. У зв'язку з відрядженням групи геологів до Західного Сибіру була проведена імунізація проти кліщового енцефаліту. Яка з приведених вакцин використовується для специфічної профілактики кліщового енцефаліту?
 A. Анатоксин. B. Інактивована. C. Рекombінантна.
 D. Субодинична. E. Хімічна.
5. Серед геологів, які повернулися з Сибіру, був зареєстрований випадок захворювання на кліщовий енцефаліт. Яку з приведених серологічних реакцій можна використовувати для виявлення антитіл проти кліщового енцефаліту при дослідженні сироватки хворого?
 A. РА. B. РГА. C. РП. D. РН. E. РІФ.

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Перевірка рівня підготовки студентів до заняття: тести і опитування.
2. Вивчення методів мікробіологічної діагностики арбовірусів.
3. Вивчення схеми виділення вірусу кліщового енцефаліту на клітинних культурах і лабораторних тваринах.
4. Мікроскопія клітинних культур в нормі і з ЦПД арбовірусів.
5. Ознайомлення з методами ідентифікації вірусу за допомогою реакції нейтралізації.
6. Вивчення методів серологічного дослідження сироватки хворих на кліщовий енцефаліт.
7. Зарисовка мікропрепаратів в протокол.
8. Мікроскопія демонстраційних препаратів і їх зарисовка.
9. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 8

Тема: Лабораторна діагностика захворювань, викликаних вірусами геморагічних лихоманок.

Мета: Освоєння методів лабораторної діагностики захворювань, викликаних вірусами геморагічних лихоманок.

Модуль 3. Загальна і спеціальна вірусологія.

Змістовний модуль 16. Спеціальна вірусологія.

Тема 9. Інші віруси РНК-геномів.

Актуальність теми. Група геморагічних лихоманок включає гострі гарячкові захворювання вірусної етіології, в патогенезі і клінічних проявах яких провідну роль грає ураження судин, що приводить до розвитку тромбогеморагічного синдрому.

Вперше як самостійна нозологічна форма геморагічну лихоманку (геморагічний нефрозонефрит) описав в 1941 р. А. В. Чурилов (професор кафедри інфекційних хвороб Військово-медичної академії). У групу геморагічних лихоманок були включені деякі хвороби, які були описані раніше (Денге, жовта лихоманка).

Відомі віруси п'яти сімейств (табл. 1): Агена-, Bunya-, Filo-, Flavi- і Togaviridae. Вони включають віруси Ласса, Хунін, Мачупо, Гуанаріто, Себія (сімейство аренавірусів) - збудники, відповідно, лихоманок Ласса, Аргентинської, Болівійської, Венесуельської і Бразильської; лихоманки долини Ріфт і Крим Конго (сімейство бун'явірусів); жовтої лихоманки (сімейство флавівірусів); лихоманок Марбург і Ебола (сімейство філовірусів), лихоманки Денге, к'ясанурської лісової хвороби і геморагічної лихоманки з нирковим синдромом (сімейство тогавірусів).

Таблиця 1

Класифікація геморагічних лихоманок

Група геморагічних лихоманок	Сімейство	Нозологічна форма
Кліщові	Bunyaviridae	Геморагічна лихоманка Конго-Крим (ККГЛ)
	Flaviviridae	Омська геморагічна лихоманка (ОГЛ)
	Flaviviridae	Хвороба К'ясанурського ліса
Комарині	Flaviviridae	Жовта лихоманка
	Flaviviridae	Геморагічна лихоманка Денге
	Togaviridae	Геморагічна лихоманка Чикунгун'я
Контагіозні	Bunyaviridae	Геморагічна лихоманка з нирковим синдромом
	Arenaviridae	Геморагічна лихоманка Ласса
	Filoviridae	Геморагічна лихоманка Ебола
	Filoviridae	Геморагічна лихоманка Марбург

Жовта лихоманка (febris flava)

Жовта лихоманка (синоніми: Yellow fever - англ.; Gelbfieber - нім.; Fievrejaune - франц.; Fiebre amarilla, Vomito negro - ісп.) - гостре арбовірусне захворювання, що передається комарами, характеризується лихоманкою, важкою інтоксикацією, тромбогеморагічним синдромом, ураженням нирок і печінки.

Головну небезпеку представляє міська жовта лихоманка, при якій резервуаром інфекції є хворі люди. Хвороба передається від людини до людини через укуси комара, при цьому виникають важкі епідемічні ситуації. Жовта лихоманка є єдиною карантинною арбовірусною інфекцією. Захворювання супроводжується гарячковим станом, інтоксикацією, геморагічним синдромом, ураженням печінки і нирок. Летальність складає 40-50 %. Всім особам, що виїжджають в регіони, несприятливі по жовтій лихоманці, щеплять живу вакцину (штам 17Д, культивованій на курячих ембріонах). Вакцина створює багаторічний імунітет.

Етіологія. Збудник - вірус *Viscerophilus tropicus*, відноситься до сімейства *Togaviridae*, роду *Flavivirus*, містить РНК, є арбовірусом антигенної групи В. Діаметр вірусних частинок - 17-25 нм. Вірус культивується в курячому ембріоні, що розвивається, і культурах тканин. Вірус відкритий в 1901 р. на Кубі У. Рідом.

Епідеміологія. Жовта лихоманка відноситься до карантинних хвороб. Ендемічними вогнищами є обширні території Південної Америки (Болівія, Бразилія, Колумбія, Перу, Еквадор і ін.), а також екваторіальної Африки. Джерелом і резервуаром інфекції служать дикі тварини (маври, опосуми, рідко інші види), а також хвора людина. Переносники - комари. Розрізняють 2 типи жовтої лихоманки: 1) міський (антропонозний) і 2) сільський (жовта лихоманка джунглів). При антропонозному типі зараження комара (*Aedes aegypti*) відбувається при укусі хворої людини в кінці інкубаційного періоду або в перші 3 дні захворювання. При сільському типі жовтої лихоманки джерелом інфекції є мавпи, а переносником комари - *Aedes africanus*, *Aedes simpsoni*.

Патогенез. Вірус проникає в організм людини при укусі інфікованим комаром. Відомі випадки лабораторних заражень аерогенним шляхом. Від місця впровадження збудник розповсюджується по лімфатичних шляхах і досягає регіонарних лімфатичних вузлів, де відбувається його розмноження і накопичення. Після декількох днів вірус проникає в кров, де його можна виявити протягом 3-5 днів. Гематогенним шляхом вірус проникає в різні органи (печінка, селезінка, нирки, кістковий мозок, лімфатичні вузли), викликаючи їх ураження. Розвивається тромбогеморагічний синдром, який виявляється у вигляді множинних крововиливів в різних органах.

Після перенесеної хвороби розвивається напружений імунітет, що зберігається протягом 6-8 років.

Симптоми і перебіг. Інкубаційний період коливається від 3 до 6 діб. У клінічному перебігу жовтої лихоманки можна виділити 3 періоди:

- початковий гарячковий період (стадія гіперемії);
- період ремісії;
- реактивний період (стадія стаза).

При важких формах хвороби період ремісії може бути відсутнім.

Хвороба починається раптово з появи сильного головного болю, виражених болів в попереку, спині, кінцівках. Температура тіла вже до кінця 1-ої доби досягає 39-40 °C і вище.

Для діагностики з серологічних методів використовують РЗК, реакцію нейтралізації і РГГА, проте остання часто дає позитивні реакції і з іншими вірусами. Дослідження проводять з парними сироватками. Використовують реакцію пригнічення бляшкоутворення, реакцію з парними сироватками і виявлення антитіл класу IgM до вірусу жовтої лихоманки, а також антигенів вірусу за допомогою твердофазного імуоферментного аналізу. Останній метод дозволяє підтвердити діагноз протягом 3 год.

Лікування. Етіотропного лікування немає.

Прогноз серйозний. Під час останніх епідемічних спалахів летальність коливалася від 5 до 10% від загального числа хворих з клінічно вираженою симптоматикою.

Профілактика і заходи у вогнищі. Хворих обов'язково ізолюють в стаціонарі. Основні заходи в профілактиці жовтої лихоманки: 1) профілактична вакцинація людей, що виїжджають в несприятливі по жовтій лихоманці країни; 2) знищення комарів-переносників; 3) захист людини від укусів комарів.

Денге (dengue)

Денге - гостра вірусна хвороба, що протікає з лихоманкою, інтоксикацією, міалгією і артралгією, висипом, лімфаденопатією, лейкопенією. Деякі варіанти Денге протікають з геморагічним синдромом. Відноситься до трансмісивних зоонозів.

Вірус виділений в 1944 р. А. Себіним. Відомі 4 антигенних варіанти вірусу, які широко циркулюють в тропічному і субтропічному поясі в багатьох країнах. Існує два епідемічні типи вогнищ лихоманки Денге: джунгльові і міські. Перші підтримуються циркуляцією вірусу між мавпами і комарами, другі - між людиною і комаром-переносником. Лихоманка Денге належить до найбільш масових арбовірусних інфекцій. Захворювання характеризується лихоманкою, суглобовими і м'язовими болями, іноді висипом, у важких випадках - геморагічним синдромом; летальність ви-

сока. Імунітет типоспецифічний. Вакцини для масового застосування не розроблені.

Етіологія. Збудники Денге відносяться до вірусів сімейства *Togaviridae* роду *Flavivirus* (арбовіруси антигенної групи В). Містять РНК, мають двохарову ліпідну оболонку з фосфоліпідів і холестеролу, розміри віріона 40-45 нм в діаметрі. Інактивується при обробці протеолітичними ферментами і при прогріванні вище 60°C, під впливом ультрафіолетового опромінювання. Відомо 4 типи вірусу Денге, різних в антигенному відношенні. Віруси Денге мають антигенну спорідненість з вірусами жовтої лихоманки, японського і західно-нильського енцефаліту. Розмножується на культурах тканин і клітинах нирок мавп, хом'яків і ін. У сироватці крові хворих вірус зберігається при кімнатній температурі до 2 міс, а висушений - до 5 років.

Епідеміологія. За останніх 10-15 років спостерігається значне підвищення захворюваності в різних регіонах. Повідомлялося про значні спалахи Денге в Китайській Народній Республіці, В'єтнамі, Індонезії, Тайланді і на Кубі. Джерелом інфекції служать хвора людина, мавпи і, можливо, кажани. Передача інфекції у людини здійснюється комарами *Aedes aegypti*, у мавп - *A. albopictus*. Комар *A. aegypti* стає заразливим через 8-12 днів після живлення кров'ю хворої людини. Комар залишається інфікованим до 3 міс і більш. Вірус здатний розвиватися в тілі комара лише при температурі повітря не нижче 22 °C. У зв'язку з цим Денге поширена в тропічних і субтропічних районах (від 42° північної до 40 ° південної широти). Денге зустрічається в країнах Південної і Південно-східної Азії, Океанії, Африки, басейну Карибського моря. Захворюють переважно діти, а також новоприбулі в ендемічний район особи.

Патогенез. Вірус проникає в організм через шкіру при укусі людини зараженим комаром. На місці воріт інфекції через 3-5 днів виникає обмежене запалення, де відбувається розмноження і накопичення вірусу. У останніх 12 год інкубаційного періоду відбувається проникнення вірусу в кров. Вірусемія триває до 3-5-го дня гарячкового періоду. Денге може протікати в класичній і геморагічній формах. Строгої залежності між типом вірусу і клінічною картиною не має. Після перенесеного захворювання імунітет триває близько 2 років, проте він типоспецифічний, можливі повторні захворювання в той же сезон (через 2-3 міс) за рахунок зараження іншим типом.

Симптоми і перебіг. Інкубаційний період триває від 3 до 15 днів (частіше 5-7 днів). Захворювання зазвичай починається раптово. Лише у окремих хворих за 6-10 год з'являються нерізко виражені продромальні явища у вигляді розбитості і головного болю. Зазвичай серед повного здоров'я з'являються озноб, болі в спині, крижах, хребті, суглобах (особливо

колінних). Лихоманка спостерігається у всіх хворих, температура тіла швидко підвищується до 39-40°C. З'являються різка адинамія, анорексія, нудота, запаморочення, безсоння; у більшості хворих - гіперемія і пастозність обличчя, ін'єкція судин склер, гіперемія зіву.

За клінічним перебігом розрізняють гарячкову форму Денге (класичну) і геморагічну лихоманку Денге.

Діагноз і диференціальний діагноз. При розпізнаванні враховуються епідеміологічні передумови (перебування в ендемічній місцевості, рівень захворюваності і ін.). В період епідемічних спалахів клінічна діагностика не представляє труднощів і ґрунтується на характерних клінічних проявах (двохвильова лихоманка, висип, міалгія, артралгія, лімфаденопатія).

Лабораторно діагноз підтверджують виділенням вірусу з крові (у перші 2-3 дні хвороби), а також по наростанню титру антитіл в парних сироватках (РЗК, РГГА, реакція нейтралізації).

Лікування. Етіотропної терапії немає. У легких випадках призначають симптоматичні засоби.

Прогноз. При класичній формі Денге прогноз сприятливий, при геморагічній формі смертність коливається від 1 до 23% (частіше близько 5%). Прогноз несприятливий при III і IV ступенях тяжкості.

Профілактика і заходи у вогнищі. Специфічна профілактика не розроблена. У ендемічних районах знищують комарів-переносників, використовують репеленти і захисні сітки. Хворих виявляють і ізолюють в госпітальних приміщеннях, що забезпечує захист від укусів комарів (занавішування сітками вікон, використання репелентів, обробка приміщень інсектицидами).

Геморагічна лихоманка з нирковим синдромом

Синоніми: геморагічний нефрозонефрит, хвороба Чурілова, епідемічний нефрозонефрит, далекосхідна геморагічна лихоманка, корейська геморагічна лихоманка, маньчжурська геморагічна лихоманка, скандинавська епідемічна нефропатія, тультська лихоманка; hemorrhagic fever with renal syndrome, Korean hemorrhagic fever - англ., Nephrosonephritis haemorrhagica - лат.

Геморагічна лихоманка з нирковим синдромом (ГЛНС) – гостра вірусна природно-осередкова хвороба, що характеризується лихоманкою, загальною інтоксикацією, своєрідним ураженням нирок і розвитком тромбогеморагічного синдрому.

Етіологія. Вірусна природа геморагічної лихоманки з нирковим синдромом була доведена ще в 1944 р. А. А. Смородінцевим, проте лише в 1976 р. південно-корейському ученому Н. W. Lee (1976) вдалося виділити з легенів гризуна *Apodemus agrarius coreae* вірус Hantaan (за назвою річки Хантаан, що протікає по 38-ій паралелі Корейського півострова). Надалі

віруси використані для діагностики геморагічної лихоманки. З 116 хворих важкою формою геморагічної лихоманки з нирковим синдромом у 113 відмічено діагностичне наростання титрів імунофлюоресцируючих анти-тіл в сироватці крові. Це підтвердило діагностичне значення знов виділеного вірусу і його етіологічну роль в генезі ГЛНС. Схожі віруси виділялися надалі у Фінляндії, США, Росії, КНР і інших країнах. В даний час збудник ГЛНС відноситься до сімейства бун'явірусів (Bunyaviridae) і виділений в окремий рід, який включає вірус Hantaan (кореїська геморагічна лихоманка), вірус Puumala (епідемічна нефропатія) і два віруси: Prospect Hill, Tchoupitoulas, які непатогенні для людини.

Віруси Хантаан і Пуумала - сферичні віруси, що містять РНК, діаметром 85-110 нм. Вірус інактивується при температурі 50 °С протягом 30 хв, при 0-4 °С стабільний 12 годин. В даний час доведена наявність антигенних відмінностей двох варіантів збудника ГЛНС. Вірус Хантаан циркулює в природних вогнищах Дальнього Сходу, Росії, Південної Кореї, КНДР, Китаю, Японії. Основним носієм служить польова миша. Другий варіант вірусу ГЛНС - європейський (західний), Пуумала - виявлений у Фінляндії, Швеції, в Росії, Франції, Бельгії. Резервуаром його є руда полівка. Передбачається існування третього, антигенного варіанту на Балканах.

Епідеміологія. ГЛНС відноситься до зоонозів з природною вогнищевістю. Резервуаром збудника служать мишоподібні гризуни. У Європейській частині Росії джерелом інфекції є руда полівка (інфікованість цих гризунів в ендемічних вогнищах досягає 40-57%). На Дальньому Сході основними джерелами інфекції є польова миша, червоно-сіра полівка і азійська лісова миша. У містах резервуаром інфекції, ймовірно, можуть бути домові щури. У мишей ця інфекція виявляється у вигляді латентного вірусоносійства. Збудник виділяється з калом, сечею. Передача між гризунами здійснюється в основному через дихальні шляхи. Зараження людини відбувається повітряно-пиловим шляхом, при вдиханні висушлих випорожнень інфікованих гризунів. Передача вірусу можлива також при зіткненні з гризунами або інфікованими об'єктами зовнішнього середовища (хворост, солома, сіно і т.п.). Допускається можливість зараження людини аліментарним шляхом, наприклад, при вживанні продуктів, які не піддавалися термічній обробці (капуста, морква і ін.) і які були забруднені гризунами. Передачі інфекції від людини до людини не відбувається.

Хворіють частіше чоловіки (70-90% хворих) в основному найбільш активного віку (від 16 до 50 років). Захворюваність характеризується вираженою сезонністю. З січня по травень захворювань майже не зустрічається, що пов'язане з різким скороченням чисельності мишоподібних гризунів в зимовий час. В кінці травня захворюваність починає підвищуватися і досягає піку в червні-жовтні. Захворюваність спостерігається в багатьох

регіонах. У Росії вже до 1960 року випадки ГЛНС реєструвалися в 29 областях, краях і автономних республіках. Останніми роками в Росії найбільш активні вогнища існують між Волгою і Уралом (Башкирія, Татарія, Удмуртія, області Самари і Уль'яновська).

Геморагічна лихоманка поширена по всьому світу. Вона спостерігалася в скандинавських країнах (Швеція, Норвегія, Фінляндія), Болгарії, Югославії, Чехословачії, в Бельгії, Франції, на Дальньому Сході (КНР, КНДР, Південна Корея). Серологічне обстеження показало наявність специфічних антитіл проти збудника ГЛНС у жителів Аргентини, Бразилії, Колумбії, Канади, США, включаючи Гавайські острови і Аляску, в Єгипті, в країнах Центральної Африки, а також Південно-східної Азії.

Патогенез. Воротами інфекції є слизиста оболонка респіраторного тракту, рідше шкіра і слизиста оболонка органів травлення. На місці воріт інфекції істотних змін не спостерігається. Початкові прояви хвороби обумовлені вірусемією і інтоксикацією. Збудник ГЛНС володіє вираженою вазотропністю, і основним в патогенезі хвороби є ураження судинної стінки.

Симптоми і перебіг. Інкубаційний період продовжується від 7 до 46 днів (частіше всього від 21 до 25 днів). Протягом хвороби виділяють наступні періоди: початковий, олігоурічний (період ниркових і геморагічних проявів), поліурічний і реконвалесценції. До характерних проявів хвороби відноситься ураження нирок. Воно виявляється в одутлості обличчя, пастозності повік.

Діагноз і диференціальний діагноз. Розпізнавання ГЛНС проводять з урахуванням епідеміологічних даних (перебування в ендемічних вогнищах, рівень захворюваності, сезонність) і характерної клінічної симптоматики (гострий початок, поєднання лихоманки, загальної інтоксикації з ураженням нирок, геморагічним синдромом, змінами сечі і ін.). Специфічні лабораторні методи не завжди доступні. Підтвердити діагноз можна виявленням антитіл класу IgM за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу або чотирикратного (і вище) наростання титрів в реакції імунної адгезії і гемаглютинації.

Лікування. Етіотропних препаратів немає. Сироватка реконвалесцентів виявилася неефективною.

Прогноз. Смертність в Китаї коливалася від 7 до 15 %, в Кореї в 1951-1976 рр. в середньому дорівнювала 6,6 %. У Росії в період з 1962 по 1990 р. смертність коливалася в межах 1-2 %. Резидуальні явища з'являються рідко і виявляються лише в перші місяці після виписки зі стаціонару.

Профілактика. Специфічна профілактика не розроблена. Вона зводиться до знищення гризунів у вогнищах ГЛНС і до захисту людей від зіткнення з гризунами або предметами, забрудненими їх виділеннями. У на-

селених пунктах, розташованих біля лісу, необхідно зберігати продукти на складах, захищених від гризунів.

Територію біля житла слід звільняти від бур'яну. При розміщенні в літніх таборах, туристичних базах і т.п. вибирати місця, не заселені гризунами, вільні від бур'яну. Сміттєві ями в цих випадках мають розташовуватися не менше ніж за 100 м від наметів.

Омська геморагічна лихоманка (*febris haemorrhagica sibirica*)

Омська геморагічна лихоманка - гостре вірусне захворювання, що характеризується природною осередковістю, лихоманкою, геморагічним синдромом і ураженням нервової системи.

Етіологія. Збудник відноситься до групи арбовірусів, сімейства *Togaviridae*, роду *Flavivirus* (група В). Відноситься до дрібних вірусів, діаметр частинок 35-40 нм, містить РНК, при температурі 4 °С інактивується через 29 днів, при 56 °С - через 25 хв. У ліофілізованому стані може зберігатися до 4 років. Вірус при пасажі на ондатрах і білих мишах стає високовірулентним, морські свинки і білі щури малочутливі до вірусу.

Епідеміологія. Перші описи Омської геморагічної лихоманки були зроблені місцевими лікарями в Омській області в період з 1940 по 1945 рр. (Б. П. Первушин, Г. А. Сизємова і ін.). З 1946 р. Омська геморагічна лихоманка виділена в самостійну нозологічну форму. Вірус виділений в 1947 р. М. П. Чумаковим.

Було встановлено, що основним резервуаром інфекції є вузькочерепа полівка, а переносником кліщ *D.pictus*. Іншим шляхом передачі інфекції був контактний. Захворювання наступало після контакту з ондатрою (місцеве населення знало про це і навіть була назва «Ондатрова хвороба»). Природні вогнища Омської геморагічної лихоманки були виявлені в степових і лісостепових районах Омської, Новосибірської, Тюменської, Курганної, Оренбурзької областей. Резервуаром інфекції в природі є в основному водяний щур, руда полівка, ондатра, а також кліщі *D.pictus*, *D.marginatus*, які можуть передавати вірус потомству трансваріально. Омська геморагічна лихоманка неконтагіозна. Випадків зараження від людини не спостерігалось.

Патогенез. Воротами інфекції є шкіра в місці укусу кліща або дрібні пошкодження шкіри, інфіковані при контакті з ондатрою або водяним щуром. На місці воріт інфекції первинного афекту не спостерігається. Вірус проникає в кров, гематогенно розноситься по всьому організму і вражає переважно судини, нервову систему і надниркові залози. При розтині померлих від Омської геморагічної лихоманки виявляють різке повнокров'я і набряк головного і спинного мозку, серозно-геморагічний лептоменінгит, дрібні крововиливи, некрози і вогнищевий енцефаліт, уражені також

симпатичні ганглії ший, сонячне сплетення, міжхребетні вузли периферичних нервів. Патоморфологічні зміни схожі з такими при інших геморагічних лихоманках.

Симптоми і перебіг. Інкубаційний період частіше продовжується від 2 до 4 днів. Продромальні явища спостерігаються рідко. Хвороба починається раптово, підвищується температура тіла і вже в першу добу досягає 39-40 °С. З'являються загальна розбитість, інтенсивний головний біль, болі в м'язах всього тіла (особливо в поперековій області і в м'язах гомілки). Хворі загальмовані, неохоче відповідають на питання, лежать на боці з відкинутою назад головою. Температура тіла тримається на високому рівні 3-4 дні, потім поволі літично знижується до 7-10-го дня хвороби. Загальна тривалість хвороби від 15 до 40 днів.

Діагноз і диференціальний діагноз. Діагноз хвороби ставлять на підставі даних епіданамнеза, клінічних проявів і результатів лабораторних досліджень. Застосовують реакції зв'язування комплементу і гальмування гемаглютинації з парними сироватками. Можливе виділення вірусу з крові, оскільки вірусемія зберігається протягом тривалого часу.

Лікування. Ефективної етіотропної терапії немає. Застосовують патогенетичне і симптоматичне лікування, аналогічне лікуванню інших середньоазійських геморагічних лихоманок. Активна імунізація не проводиться. Для лікування і екстреної профілактики використовують специфічний гетерологічний імуноглобулін.

Прогноз. Летальність від 1 до 10%. При одужанні з'являється тривала астенизація. Стійких резидуальних явищ, як правило, не спостерігається.

Профілактика і заходи у вогнищі. У зв'язку з тим, що основним шляхом зараження є трансмісивний - кліщовий, велике значення в профілактиці захворювання має своєчасне застосування репелентів (диметилфтолат, дибутилфтолат, диетилтолуамід і ін.). Для знищення кліщів використовують акарицидні засоби. Припущення про можливість аліментарного і аспіраційного шляхів розповсюдження цього захворювання диктують необхідність ізоляції хворого і проведення поточної і завершальної дезинфекції.

Геморагічна лихоманка Крим-Конго (febris haemorrhagica crimiana)

Геморагічна лихоманка Крим-Конго (синоніми: геморагічна лихоманка Крим-Конго-Хазер, Кримсько-Конголезька лихоманка, середньоазійська геморагічна лихоманка, карахалак; Crimean-Congo hemorrhagic fever, Crimean hemorrhagic fever - англ.) - гостре вірусне захворювання, що відноситься до зоонозів з природною осередковістю. Характеризується двохвильовою лихоманкою, загальною інтоксикацією і вираженим тромбогеморагічним синдромом.

Вірус вперше виділений в 1945 р. М. П. Чумаковим. Природні вогнища вірусу знаходяться на території Росії (Астраханська, Ростовська області, Краснодарський і Ставропольський краї) і низки країн Європи і Азії. Переносниками є іксодові кліщі. Механізм передачі трансмісивний, проте можливе зараження через пошкоджені шкірні покриви при контакті з кров'ю хворої людини. Захворювання характеризується гарячковим станом, інтоксикацією і множинними крововиливами (геморагіями) у внутрішні органи. Під час епідемічних спалахів летальність може досягати 50%. Розроблена інактивована мозкова вакцина. Для лікування використовують рибавірин, інтерферон, специфічний імуноглобулін.

Етіологія. Збудник відкритий в 1945 р. М.П. Чумаковим. Є вірусом, що містить РНК, відноситься до сімейства *Bunyaviridae*, роду *Nairovirus*. У 1956 р. ідентичний по антигенному складу вірус був виділений з крові хворого на лихоманку хлопчика. Збудник отримав назву вірус Конго. Віріони сферичної форми 92-96 нм в діаметрі. Найбільш чутливі до вірусу клітини нирок ембріона свиней, сірійських хом'яків і мавп. У ліофілізованому стані зберігається понад 2 років. Локалізується переважно в цитоплазмі.

Епідеміологія. Резервуаром вірусу є дикі дрібні ссавці: лісова миша, малий ховрах, заєць-русак, вухатий їжак. Переносником і резервуаром є кліщі, переважно з роду *Hyalomma*. Захворюваність характеризується сезонністю з максимумом з травня по серпень (у нашій країні). Хвороба спостерігалася в Криму, Астраханської, Ростовської областях, Краснодарському і Ставропольському краях, а також в Середній Азії, Китаї, Болгарії, Югославії, в більшості країн Африки на південь від Сахари (Конго, Кенія, Уганда, Нігерія і ін.). У 80 % випадків хворіють особи у віці від 20 до 60 років.

Патогенез. Воротами інфекції є шкіра в місці укусу кліща або дрібні травми при контакті з кров'ю хворих людей (при внутрішньолікарняному зараженні). На місці воріт інфекції виражених змін не спостерігається. Вірус проникає в кров і накопичується в клітинах ретикулоендотеліальної системи. Багато питань патогенезу лихоманки Крим-Конго залишаються невивченими.

Симптоми і перебіг. Інкубаційний період триває від 1 до 14 днів (частіше 2-7 днів). Продромальних явищ не буває. Хвороба починається раптово, хворі можуть назвати навіть годину початку захворювання. Температура тіла швидко підвищується (іноді з вираженим ознобом) і навіть при легких формах хвороби досягає 39-40 °С. Постійним симптомом є лихоманка, яка триває в середньому 7-8 днів, особливо типова для Кримської геморагічної лихоманки температурна крива.

Діагноз і диференціальний діагноз. Враховуються епідеміологічні передумови (перебування в ендемічних регіонах, пора року, рівень захворюваності і ін.) і характерні клінічні симптоми: гострий початок, тромбогеморагічний синдром, що рано з'являється і різко виражений, двохвилова температурна крива, лейкопенія, анемізація і ін.

Специфічні лабораторні методи (виділення вірусу і ін.) в практичній роботі використовуються рідко.

Лікування. Етіотропного лікування немає. Проводять терапію як при інших вірусних геморагічних лихоманках.

Прогноз серйозний. Летальність досягає 30 % і більш.

Профілактика і заходи у вогнищі. Проводять заходи щодо боротьби з кліщами і захисту від них людей. Необхідно попередити зараження від людей. Запобіжні засоби повинні дотримуватися на всіх етапах обстеження хворого, узяття матеріалу, при проведенні лабораторних досліджень і ін. У вогнищах проводять завершальну дезінфекцію.

Лихоманка Ласса (febris lassa)

Лихоманка Ласса - гостра вірусна хвороба з групи зоонозів з природною осередковістю. Характеризується важким перебігом, високою летальністю, тромбогеморагічним синдромом, виразковим стоматитом, ураженням органів дихання, нирок, центральної нервової системи, міокардитом.

Етіологія. Збудник відноситься до аренавірусів, сімейства *Arenaviridae*, роду *Arenavirus*.

Епідеміологія. У 1969 р. в місті Ласса (Нігерія) серед місіонерів виникло висококонтagioзне вірусне захворювання. Надалі спалахи цієї хвороби спостерігалися в С'єра-Леоне і Ліберії. Існування осередків інфекції серологічно доведене і в інших країнах Африки (Берег слонової кістки, Гвінея, Малі, Мозамбік, Сенегал і ін.). Летальність досягала 36-67 %. Резервуар інфекції - багатососковий щур (*Mastomys natalensis*), широко поширений в Західній Африці. Характерна тривала персистенція вірусу у інфікованих тварин; він виділяється з сечею, слиною, виявлений в секреті респіраторного тракту. Зберігається у висохлих виділеннях.

Зараження людини може відбуватися аліментарним і повітряно-пиловим шляхом. Хвора людина представляє велику небезпеку для тих, що оточують. Вірус виявлений в крові, у виділеннях (кал, блювотні маси, сеча), а також в крапельках слини. Зараження може відбуватися повітряно-краплинним шляхом, а також при попаданні на шкіру крові або виділень хворого; вірус проникає через мікротравми шкіри. Так інфікуються медичні працівники, що доглядають за хворими, і працівники лабораторій при дослідженні матеріалів від хворих. Виділення вірусу хворими може продовжуватися до 1 міс і більше. Не виключається можливість трансмі-

сивної передачі. Сезонність відсутня. Можливі завезення лихоманки Ласса в інші країни (при переїзді з вогнища інфекції під час інкубаційного періоду) і розвиток там спалаху за рахунок контактної передачі інфекції.

Симптоми і перебіг. Інкубаційний період продовжується 3-17 днів. Продромальних симптомів немає. Захворювання починається відносно поступово. З кожним днем наростає вираженість лихоманки і симптомів загальної інтоксикації. У перші дні хворі відзначають загальну слабкість, розбитість, загальне нездужання, помірні м'язові і головні болі. Температура тіла наростає і через 3-5 днів досягає 39-40 °С. Лихоманка може продовжуватися 2-3 тиж.

Діагноз підтверджується серологічно при наростанні титрів антитіл до вірусу Ласса в 4 рази і більш. Використовують метод непрямой флюоресценції антитіл або виявляють специфічні антитіла до вірусу Ласса (IgM). Діагноз лихоманки Ласса маловірогідний, якщо до 14-го дня хвороби антитіла класу IgM відсутні. Виділення вірусу лихоманки Ласса допустимі лише в лабораторіях, що мають спеціальне захисне устаткування. Необхідно строго дотримувати заходи захисту при роботі з матеріалами, що містять вірус (кров, сеча і ін.). Вірус можна виділити з патологоанатомічного матеріалу (печінка, селезінка, нирки, серце).

Лікування. Всі хворі підлягають госпіталізації і строгій ізоляції. Для специфічної терапії можна ввести 250-500 мл сироватки або плазми від пацієнтів, що перехворіли лихоманкою Ласса, узятую не раніше 2 міс після одужання.

Прогноз для життя серйозний. Хвороба протікає дуже важко, летальність 36-67%. Якщо хворий не гине в гострий період, всі прояви хвороби поступово стихають, настає повне одужання без резидуальних явищ.

Профілактика і заходи у вогнищі. Лихоманка Ласса відноситься до особливо небезпечних вірусних хвороб. Необхідне строге проведення профілактичних заходів з урахуванням повітряно-краплинної і контактної шляхи передачі.

Лихоманка Марбурґ (febris marburg)

Лихоманка Марбурґ (синоніми: хвороба Марбурґ, геморагічна лихоманка Маріді; Marburg disease - англ.) - гостра вірусна хвороба, що характеризується важким перебігом, високою летальністю, геморагічним синдромом, ураженням печінки, шлунково-кишкового тракту і центральної нервової системи.

Етіологія. Віруси Марбурґ і Ебола схожі по своїй морфології, але відрізняються по антигенній структурі. Характерний поліморфізм, віріони можуть бути спиралевидної і округлої форми. Довжина їх коливається від 665 до 1200 нм, діаметр поперечного перетину - 70-80 нм. По ультраструктурі і антигенному складу відрізняються від всіх відомих вірусів. Вірусні

частинки містять РНК, ліпопротеїн; присутність гемаглютининів і гемолізину не виявлена. Антигенна активність пов'язана з вірусними частинками, існування розчинного антигена не доведено. Віруси виділяються на морських свинках і в культурі клітин нирки зеленої мавпи, що переживаються (Ve-rd). При пасивуванні в культурах тканин вірус надає неповний цитопатичний ефект або зовсім його не викликає. Відноситься до сімейства *Filoviridae*, роду *Lyssavirus*.

Епідеміологія. Перші спалахи захворювання виникли в 1967 році одночасно в м. Марбурзі і м. Франкфурті-на-Майні, один хворий спостерігався в цей час в Югославії. Надалі подібні захворювання спостерігалися в Судані (район села Маріді, хворобу називали лихоманкою Маріді), в Кенії, ПАР. Джерелом інфекції і резервуаром вірусу в природі під час всіх цих спалахів були африканські зелені мавпи (*Ceropithecus aethiops*), у яких інфекція може протікати інापарантно. Участь інших тварин в природних осередках інфекції, а також шляхи передачі інфекції мавпам поки не вивчені.

Хвора людина представляє небезпеку для тих, що оточують. Виділення вірусу відбувається з носоглотковим вмістом, сечею, заразлива також кров хворих. Інфікування людей може відбуватися повітряно-краплинним шляхом, при попаданні вірусу на кон'юнктиву, а також на шкіру (випадкові уколи голкою або порізи), не виключається можливість статевого шляху передачі інфекції (вірус виявлявся в сім'яній рідині). Вірус в організмі людини, що перехворіла, може зберігатися до 3 міс.

Патогенез. Воротами інфекції служать пошкоджена шкіра, слизисті оболонки (ротова порожнина, очі). Характерна дисемінація вірусу. Розмноження його може відбуватися в різних органах і тканинах (печінка, селезінка, легені, кістковий мозок, яєчка і ін.). Вірус тривало виявляється в крові, спермі (до 12 тиж).

Симптоми і перебіг. Інкубаційний період 2-16 діб. Клінічні симптоми, тяжкість перебігу і результати при захворюваннях, описаних як лихоманка Марбург і геморагічна лихоманка Маріді, нічим не розрізняються. Продромальний період відсутній. Хвороба починається гостро з швидким підвищенням температури тіла до високого рівня, часто з ознобом. З перших днів хвороби з'являються ознаки загальної інтоксикації (головний біль, розбитість, м'язові і суглобові болі), через декілька днів приєднуються ураження шлунково-кишкового тракту, геморагічний синдром; розвивається зневоднення, порушується свідомість.

Діагноз і диференціальний діагноз. При розпізнаванні хвороби важливе значення мають епідеміологічні передумови (перебування в місцевостях з природними вогнищами лихоманки Марбург, робота з тканинами африканських мавп, контакт з хворими). Характерна клінічна картина:

гострий початок захворювання, важкий перебіг, наявність везикульозно-ерозійних змін слизистої оболонки порожнини рота, геморагічний синдром, висип, пронос, блювота, зневоднення, важке ураження центральної нервової системи (розлади свідомості, менингеальний синдром), характерні зміни периферичної крові. Мають деяке значення відсутність ефекту від застосування антибіотиків, хіміотерапевтичних протималарійних препаратів, негативні результати звичайних бактеріологічних і паразитологічних досліджень.

Специфічні методи лабораторних досліджень дозволяють виявити вірус або антитіла до нього. Робота з матеріалом, що містить вірус, проводиться з дотриманням заходів профілактики тільки в спеціально обладнаних лабораторіях. При узятті матеріалу для лабораторних досліджень дотримують правила упаковки і пересилки, що рекомендуються для особливо небезпечних інфекцій (поміщати в металеві бокси та ін.). Антитіла в сироватці крові хворих визначають за допомогою імунофлюоресцентного методу.

Лікування. Етіотропна терапія не розроблена. Сироватка реконвалесцентів не дає ні профілактичного, ні терапевтичного ефекту. Немає ефективних противірусних хіміопрепаратів. Основне значення має патогенетична терапія.

Прогноз завжди серйозний. Загальна смертність складає 25%, смерть настає зазвичай на 8-16-й день хвороби.

Профілактика і заходи у вогнищі. Хворі на лихоманку Марбург підлягають обов'язковій госпіталізації і строгій ізоляції в окремому боксі. Дотримуються всі запобіжні засоби.

Лихоманка Ебола (febris ebola)

Лихоманка Ебола - гостра вірусна висококонтagioзна хвороба, характеризується важким перебігом, високою летальністю і розвитком геморагічного синдрому.

Етіологія. У 1976 р. в Південному Судані і Північному Заїрі спалахнула епідемія геморагічної лихоманки. У Судані захворіло близько 300 чоловік (померло 151), в Заїрі захворіло 237, з яких померла 211 людина. Був виділений вірус в місцевості біля річки Ебола в Заїрі, звідси назва - лихоманка Ебола. За своїми морфологічними властивостями вірус Ебола не відрізняється від вірусу Марбург, але відрізняється від нього в антигенному відношенні. Відноситься також до сімейства рабдовірусів, роду ліссавірусів.

Резервуаром вірусу в природі вважаються гризуни, що мешкають біля житла людини. Хвора людина представляє небезпеку для тих, що оточують. Були відмічені випадки вторинного і третинного розповсюдження інфекції, в основному серед персоналу госпіталю. Вірус виділяється від

хворих близько 3 тиж. Можлива передача інфекції через недостатньо простерилізовані голки і інші інструменти.

Лікування, профілактика. Див. лихоманка Марбург.

Прогноз серйозний, летальність дуже висока.

Конкретні цілі:

1. Ознайомитися з біологічними властивостями і класифікацією вірусів геморагічних лихоманок.
2. Описувати епідеміологію і патогенез вірусів геморагічних лихоманок.
3. Вивчити методи мікробіологічної діагностики захворювань, викликаних вірусами геморагічних лихоманок.
4. Ознайомитися з методами профілактики захворювань, викликаних вірусами геморагічних лихоманок.

Уміти:

1. Проводити диференціацію вірусів геморагічних лихоманок.
2. Забирати матеріал для дослідження від хворих із захворюваннями, викликаними вірусами геморагічних лихоманок.
3. Виділяти і проводити ідентифікацію вірусів геморагічних лихоманок.
4. Тракувати результати мікробіологічного дослідження клітинних культур в нормі і з ЦПД вірусів геморагічних лихоманок.
5. Тракувати результати серологічного дослідження сироватки хворих із захворюваннями, викликаними вірусами геморагічних лихоманок.

Теоретичні питання:

1. Загальна характеристика вірусів геморагічних лихоманок. Класифікація. Антигени. Культивування. Чутливість до фізичних і хімічних чинників.
2. Сімейство Флавівіруси. Характеристика основних представників, патогенних для людини - збудників жовтої і Омської геморагічних лихоманок, лихоманки Денге, японського енцефаліту. Особливості патогенезу. Природна очаговість.
3. Сімейство Бун'явіруси. Характеристика основних представників, патогенних для людини - збудників Кримської і москитної геморагічних лихоманок, лихоманки Паппатачи. Особливості патогенезу. Природна очаговість.
4. Сімейство Аренавіруси. Характеристика основних представників, патогенних для людини - збудників Болівійської і Аргентинської лихоманок, лихоманки Ласса. Особливості патогенезу. Природна очаговість.
5. Мікробіологічна діагностика захворювань, викликаних вірусами геморагічних лихоманок.

6. Специфічна профілактика і лікування захворювань, викликаних вірусами геморагічних лихоманок.

Практичні завдання, що виконуються на занятті:

1. Мікроскопія мікропрепаратів з клітинних культур в нормі і з ЦПД вірусів геморагічних лихоманок.
2. Зарисовка демонстраційних мікропрепаратів в протокол.
3. Оформлення протоколу.

Література:

1. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / Под ред. А. А. Воробьева. – М. : ООО «Медицинское информационное агентство», 2006. – 704 с.
2. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / Под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова. – М. : ООО «Медицинское информационное агентство», 2003. – 236 с.
3. Поздеев О. К. Медицинская микробиология / О. К. Поздеев. – [под ред. В. И. Покровского] – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 765 с.

Додаткова література:

1. Букринская А. Г. Вирусология / А. Г. Букринская. – М. : Медицина, 1986. – 336 с.
2. Шувалова Е. П. Инфекционные болезни / Е. П. Шувалова. – [5-е изд., перераб. и доп.]. – М. : Медицина, 2001. – 642 с.

Короткі методичні вказівки до практичного заняття:

На початку заняття проводиться перевірка рівня знань студентів по темі.

Самостійна робота складається з вивчення методів мікробіологічної діагностики захворювань, викликаних вірусами геморагічних лихоманок. Студенти вивчають схему класифікації вірусів геморагічних лихоманок, знайомляться з методами ідентифікації вірусів за допомогою реакції нейтралізації і гальмування гемаглютинації. Далі студенти вчаться трактувати результати серологічного дослідження сироватки хворих на геморагічні лихоманки. Потім студенти замальовують мікропрепарати і дають необхідні пояснення. До складу самостійної роботи входить також мікроскопія демонстраційних препаратів і їх зарисовка, заповнення протоколу.

В кінці заняття проводиться тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. Відомо, що Омська геморагічна лихоманка відноситься до інфекцій, для яких характерна природна очаговість. Які шляхи передачі цього захворювання є найбільш можливими в природному вогнищі?

А. Трансмисивний.

В. Аліментарний.

С. Контактний.

Д. Вірно А, В.

Е. Вірно А, В, С.

2. В одному з гірських районів Криму відбувся випадок захворювання на Кримську геморагічну лихоманку. До якого сімейства відноситься вірус, що викликає це захворювання?

- A. Rhabdoviridae. B. Flaviviridae. C. Bunyaviridae.
D. Picornaviridae. E. Arenaviridae.

3. У хворого М. після укусу кліща запідозрили Кримську геморагічну лихоманку. Для виділення вірусу використовували мишей-сосунків. Яку з приведених серологічних реакцій можна використовувати для ідентифікації цього вірусу?

- A. РА. B. РГА. C. РП. D. РН. E. РГГА.

4. У зв'язку з відрядженням групи геологів до Західного Сибіру була проведена імунізація проти Омської геморагічної лихоманки. Яка з приведених вакцин використовується для специфічної профілактики Омської геморагічної лихоманки?

- A. Анатоксин. B. Інактивована. C. Рекомбінантна.
D. Субдинична. E. Хімічна.

5. У вірусологічній лабораторії з метою виділення вірусу жовтої лихоманки з крові хворого заразили мишей-сосунків. Які прояви перебігу цієї інфекції можна чекати у тварин?

- A. Енцефалит з летальним результатом.
B. Крововиливи у внутрішні органи.
C. Вогнища некрозу в легенях.
D. Паралічі нижніх кінцівок. E. Ніяких змін.

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Перевірка рівня підготовки студентів до заняття: тести і опитування.
2. Вивчення методів мікробіологічної діагностики вірусів геморагічних лихоманок.
3. Вивчення схеми виділення вірусів геморагічних лихоманок на курячих ембріонах і лабораторних тваринах.
4. Мікроскопія клітинних культур в нормі і з ЦПД арбовірусів.
5. Ознайомлення з методами ідентифікації вірусів за допомогою реакції нейтралізації.
6. Вивчення методів серологічного дослідження сироватки хворих на геморагічні лихоманки.
7. Зарисовка мікропрепаратів в протокол.
8. Мікроскопія демонстраційних препаратів і їх зарисовка.
9. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 9

Тема: Параміксовіруси (морбіллівіруси).
Лабораторна діагностика кору. Вірус краснухи.
Мета: Вивчення лабораторної діагностики кору і краснухи.

Модуль 3. Загальна і спеціальна вірусологія.

Змістовний модуль 16. Спеціальна вірусологія.

Тема 6. Параміксовіруси.

Актуальність теми. Вірус кору

Кір - гостра вірусна хвороба, що характеризується лихоманкою, загальною інтоксикацією, енантемою, макулопапульозним висипом, ураженням кон'юнктив і верхніх відділів респіраторного тракту. Вірус кору виділений в 1954 р.

Таксономія. Вірус кору (*Polinosa morbillarum*) містить РНК, відноситься до параміксовірусів (сімейство *Paramyxoviridae*, рід *Morbillivirus*).

Морфологія, антигенна структура. Морфологічно вірус кору схожий з іншими параміксовірусами, діаметр його віріона 120-250 нм. Оболонка містить 3 шари - білкову мембрану, ліпідний шар і зовнішні глікопротеїдні виступи. Містить РНК, декілька антигенів: внутрішні серцевинні і поверхневі антигени зовнішньої оболонки. Антигенні варіанти не виявлені; володіє гемаглютинуючою і гемолізуючою активністю.

Культивування. При розмноженні вірусу в клітинних культурах спостерігається характерний цитопатичний ефект (утворення гігантських багатоядерних клітин - симпластів), поява включень цитоплазматичних і внутрішньоядерних, феномен гемадсорбції і бляшкоутворення під агаровим покриттям.

Резистентність. У навколишньому середовищі вірус швидко гине під дією прямого сонячного світла, УФ-променів, тому дезинфекцію при корі не проводять.

Сприйнятливість тварин. Типову картину корової інфекції вдається відтворити тільки на мавпах, інші лабораторні тварини малочутливі. Гемолізує і аглютинує еритроцити мавп, але на відміну від інших параміксовірусів не аглютинує еритроцитів курей, морських свинок, мишей. Патогенний для мавп. Культивується на клітинах нирок людини і мавп.

Епідеміологія. Джерелом інфекції є тільки хвора людина, яка виділяє вірус кору в зовнішнє середовище з останніх 2 днів інкубаційного періоду до 4-го дня після висипання. Механізм передачі збудника - аерогенний (повітряно-краплинний). Особи, що не хворіли на кір і неприщеплені проти кору, залишаються високо сприйнятливими до кору протягом всього

життя і можуть захворіти в будь-якому віці. Для повного захисту від кору необхідна імунізація 94-97 % дітей до 15-місячного віку. Це важко здійснити навіть в розвинених країнах. Спостерігаються спалахи кору і серед вакцинованих (67-70 % всіх спалахів). Велике число хворих з'являється серед більш старших вікових груп (діти шкільного віку, підлітки, військовослужбовці, студенти і ін.). Це пов'язано зі значним зниженням імунітету через 10-15 років після імунізації. Висока захворюваність в країнах Африки, кір тут протікає особливо важко.

Патогенез і клінічна картина. Воротами інфекції служить слизова оболонка верхніх дихальних шляхів. Вірус розмножується в епітелії респіраторного тракту, а також в інших епітеліальних клітинах. При електронній мікроскопії матеріалу, взятого з плям Філатова-Копліка і шкірних висипань, виявляються скупчення вірусу кори. З останніх днів інкубації протягом 1-2 днів після появи висипу вірус можна виділити з крові. Збудник гематогенно розноситься по всьому організму, фіксується в органах ретикулоендотеліальної системи, де розмножується і накопичується. В кінці інкубаційного періоду спостерігається друга, більш напружена хвиля вірусемії. Збудник володіє вираженою епітеліотропністю і вражає шкірні покриви, кон'юнктиви, слизисті оболонки респіраторного тракту і ротової порожнини (плями Бельського-Філатова-Копліка). Вірус можна виявити також в слизистій оболонці трахеї, бронхів, іноді в сечі. З 3-го дня висипання вірусемія різко знижується, а з 4-го дня вірус зазвичай не виявляється. З того часу в крові починають виявлятися віруснейтралізуючі антитіла. При корі розвивається специфічна алергічна перебудова організму, що зберігається тривалий час. У прищеплених з часом різко знижуються титри антитіл до вірусу кори, тоді як алергізація зберігається тривало. Імунодепресія зберігається декілька місяців. Як встановлено в країнах Африки, протягом декількох місяців після спалаху кору захворюваність і смертність серед дітей, що перенесли кір, в 10 разів більше в порівнянні з дітьми, які не хворіли на кір.

Інкубаційний період триває 9-11 днів. При профілактичному введенні імуноглобуліну він може подовжуватися до 15-21 дня, рідше - довше. Окремі прояви хвороби з'являються з другої половини інкубаційного періоду. Початковий, або продромальний період характеризується підвищенням температури тіла до 38-39°C, розбитістю, загальним нездужанням, зниженням апетиту. Посилюється нежить, з'являється грубий «гавкаючий» кашель, різко виражена гіперемія кон'юнктив. З'являється корова енантема у вигляді дрібних червоних плям, розташованих на слизистій оболонці м'якого і твердого піднебіння, патогномонічні для кору плями Бельського-Філатова-Копліка. Ці плями частіше локалізуються на слизистій оболонці щік. Вони є дрібними білястими, такими, що злегка підно-

сяться над рівнем слизистої оболонки плямочками, оточені вузькою червонуватою облямівкою, і міцно сидять на слизистій оболонці. На вигляд нагадують манну крупу або висівки. З появою висипу вони зникають. В кінці початкового періоду (3-4-й день) температура тіла знижується, потім з появою корового висипу знов підвищується до вищих цифр. Загальна інтоксикація і ураження дихальних шляхів посилюються.

Коровий висип характеризується етапністю висипання: у 1-й день елементи висипу з'являються на обличчі, шії; на 2-й день - на тулубі, руках і стегнах; на 3-й день висип захоплює гомілки і стопи, а на обличчі починає бліднути. Найгустіше елементи висипу розташовані на обличчі, шії і верхній частині тулуба. Висипання складаються з невеликих папул (близько 2 мм), оточені неправильної форми плямою; діаметр плями, як правило, більше 10 мм. Елементи висипу схильні до злиття, утворюючи складні фігури з фестончатыми краями. Проте навіть при найгустішому висипі можна виявити ділянки абсолютно нормальної шкіри. В деяких випадках на тлі корового висипу можна відмітити крововиливи (петехії). Через 3-4 дні елементи висипу бліднуть, на їх місці залишаються бурі плями - пігментація, особливо виражена і тривала за наявності геморагічних перетворень висипу. На місці висипу надалі спостерігається висівковоподібне лущення (на обличчі і тулубі).

Характерний виражений кон'юнктивіт, іноді з гнійними виділеннями, такими, що склеюють вії вранці. Периферичні лімфатичні вузли (задньо-шейні, потиличні, пахові) збільшені, іноді чутливі при пальпації. Над легеньми вислуховуються розсіяні сухі хрипи, іноді середньопухирчасті вологі хрипи. У разі приєднання пневмонії з'являється задишка, при перкусії з'являються окремі ділянки укорочення перкуторного звуку, вислуховуються звучні дрібнопухирчасті вологі хрипи. У деяких хворих з'являються болі в животі, рідкий стілець. Поява діареї може бути обумовлена іншими патогенними агентами (кампілобактер, лямблії, ротавіруси і ін.), що нашаровуються на корову інфекцію.

Ускладнення. Ураження вірусом кору слизистої оболонки респіраторного тракту може приводити до розвитку бронхіту, ложного крупу, бронхіоліту, а також зумовити найбільш часте ускладнення кору - пневмонію. За генезом вона вірусно-бактерійна. Велику роль грає вторинна бактерійна мікрофлора, що приєдналася. Але при деяких формах пневмонії основну роль грає вірус. До таких ускладнень можна віднести інтерстиціальну гігантоклітинну пневмонію, яка найчастіше розвивається у осіб з імунodefіцитами (у онкологічних хворих вона виявляється у 50-60 %, у ВІЛ-інфікованих - у 60-82 %), протікає важко, супроводжується задишкою, в легенях виявляються інфільтративні зміни, в мокроті можна виявити багатоядерні гігантські клітини.

Кон'юнктивіт є обов'язковим проявом кору, але у деяких хворих крім кон'юнктиви може вражатися і рогівка. Кератокон'юнктивіт є ускладненням, яке іноді може привести до сліпоти. До рідкісних ускладнень відносяться міокардит, гепатит, гломерулонефрит. При вторинній бактерійній пневмонії може розвинути абсцес легені.

Важким ускладненням є ураження центральної нервової системи (енцефаліт, менінгоенцефаліт), яке спостерігається у 1 на 1000 хворих на кір (у осіб з ослабленою імунною системою енцефаліт спостерігався в 20 % випадків). Ознаки енцефаліту частіше з'являються через тиждень після появи висипу, хоча можуть розвинути і пізніше (через 2-3 тиж). Знов підвищується температура тіла, з'являються ознаки загальної інтоксикації, сонливість, загальмованість, іноді втрата свідомості, амімія, відсутність черевних рефлексів, ністагм, ураження лицьового нерва, паралічі кінцівок. Тяжкими наслідками може закінчитися корове ураження зорового і слухового нерва. При залученні до процесу спинного мозку можуть бути тазові розлади.

Імунітет. Після захворювання виробляється довічний імунітет. Пасивний природний імунітет зберігається до 6 міс. Повторні захворювання на кір зустрічаються рідко. Імунітет після щеплень більш короткочасний (через 10 років після щеплення лише у 36 % вакцинованих зберігаються захисні титри антитіл).

Лабораторна діагностика. Досліджуваний матеріал – виділення носоглотки, зіскоби зі шкіри з ділянки висипу, кров, сеча, в летальних випадках - мозкова тканина. Експрес-діагностика заснована на виявленні специфічного антигена в РІФ, а також антитіл класу IgM за допомогою ІФА. Для виділення вірусу використовують культуру клітин. Ідентифікацію виділеного вірусу проводять за допомогою РІФ, РГГА, РН в культурі клітин. Для серологічної діагностики використовують РН, РЗК, РГГА.

Специфічна профілактика і лікування. Для специфічної профілактики застосовують живу атенуйовану корову вакцину, отриману А. А. Смородинцевим і М. П. Чумаковим. Вакцина вводиться дітям у віці 1 року парентерально. У 95 % вакцинованих формується тривалий імунітет. У вогнищах кору ослабленим дітям вводять протикоровий імуноглобулін. Тривалість пасивного імунітету 1 міс. Лікування симптоматичне. Протикоровий імуноглобулін володіє лише профілактичною дією. При появі клінічної симптоматики він ніякого ефекту не надає.

Профілактика і заходи у вогнищі. Кір можна попередити пасивною імунізацією (одноразове введення імуноглобуліну в дозі 25 мл/кг в перші 5 днів після контакту з коровим хворим). Пасивна імунізація показана дітям до 3 років, вагітним жінкам, хворим на туберкульоз і особам з ослабленою імунною системою. Діти старші за 3 роки, що не хворіли на кір,

не прищеплені раніше і що не мають клінічних протипоказань, підлягають щепленням в терміновому порядку протикоровою вакциною. Вакцина може забезпечити захисний ефект при використанні її до контакту або протягом 2 діб після контакту з хворим на кір. Дітей, що контактували з хворими на кір, не допускають до дитячих установ протягом 17 днів з моменту контакту, а що отримували профілактично імуноглобулін - 21 день. Перші 7 днів від початку контакту діти роз'єднуванню не підлягають.

Надійним методом попередження кору є імунізація живою вакциною. Щеплення забезпечує захисний ефект протягом близько 15 років. Першу вакцинацію проводять дітям у віці близько 1 року (при епідемічно несприятливій ситуації у віці 6-13 міс), друге щеплення роблять дітям у віці 15-18 міс.

Вірус краснухи

Краснуха - гостра вірусна хвороба, що характеризується дрібноплямистим висипом, генералізованою лімфаденопатією, помірно вираженою лихоманкою і ураженням плоду у вагітних. Вірус вперше виділений в 1961 р.

Таксономія. Вірус, що містить РНК, відноситься до сімейства *Togaviridae* (від лат. *toga* - плащ), роду *Rubivirus* (від лат. *rubrum* - червоний).

Морфологія, антигенна структура. Віріони мають сферичну форму діаметром 60-70 нм і складноорганізовану структуру, на поверхні розташовані ворсинки довжиною 8 нм, містять РНК. Вірус містить комплекс внутрішніх і зовнішніх антигенів, не має антигенних варіантів, володіє гемаглютинуючою активністю. На відміну від інших тогавірусів вірус краснухи містить нейрамінідазу.

Культивування. Вірус розмножується в первинних клітинних культурах та культурах, що переживаються, з утворенням включень у цитоплазмі.

Резистентність. Вірус нестійкий в навколишньому середовищі, легко руйнується під дією УФ-променів, жиророзчинників і багатьох хімічних речовин.

Сприйнятливість тварин. Експериментально інфекцію вдається відтворити на деяких видах мавп. Вірус здатний розмножуватися на багатьох клітинних культурах, але цитопатичну дію проявляє лише на небагатьох, зокрема на культурі ВНК-21 (хом'ячкова). Вірус краснухи аглютинує еритроцити голубів, гусаків, володіє гемолітичними властивостями.

Епідеміологія. Краснуха - висококонтагіозна інфекція, поширена повсюдно, вражає переважно дітей у віці 3-6 років. Можуть хворіти і дорослі. Максимальне число захворювань реєструється в квітні-червні. Під час епідемічного спалаху захворюють не тільки діти, але і дорослі, особливо в

організованих колективах. Особливу небезпеку краснуха представляє для вагітних унаслідок внутрішньоутробної інфекції плоду. Вірус краснухи виділяється в зовнішнє середовище за тиждень до появи висипу і протягом тижня після висипання. Джерелом інфекції є хворий з клінічно вираженою або безсимптомною формою інфекції. Віруси виділяються із слизом з верхніх дихальних шляхів, з фекаліями і сечею. Механізм передачі збудника - аерогенний (повітряно-краплинний шлях), у вагітних - трансплацентарний.

Патогенез і клінічна картина. Вірус краснухи при природній інфекції проникає в організм через слизисті оболонки дихальних шляхів, хоча в експерименті на добровольцях вдавалося викликати захворювання і при інтрадермальному введенні вірусу. Надалі настає вірусемія. Гематогенно вірус розноситься по всьому організму, володіє дерматотропними властивостями, викликає зміни лімфатичних вузлів, які збільшуються вже в кінці інкубаційного періоду. В цей час вірус можна виділити з носоглотки. З появою висипу вірус в крові і в носоглотці не виявляється, але в деяких випадках виділення його продовжується 1-2 тиж після висипання. Антитіла в сироватці з'являються через 1-2 дні після висипання. Надалі титр їх наростає. Після перенесеного захворювання антитіла зберігаються протягом всього життя. Титр комплементу зв'язуючих антитіл поступово знижується. Імунітет стійкий довічний.

Вірус краснухи володіє тропізмом до ембріональної тканини, значно порушує розвиток плоду. Частота уражень плоду залежить від термінів вагітності. Захворювання на краснуху на 3-4-му тижні вагітності обумовлює природжені вади в 60 % випадків, на 9-12-му тижні - в 15 % і на 13-16-му тижні - в 7 % випадків. При захворюванні вагітних на краснуху під час вірусемії вірус потрапляє в плаценту, там розмножується і інфікує плід. Інфекція викликає порушення мітотичної активності, хромосомні зміни, що приводять до відставання у фізичному і розумовому розвитку. При природженій краснусі, не дивлячись на наявність в сироватці крові антитіл до вірусу краснухи, збудник тривалий час (до 31 міс) зберігається в організмі дитини. Дитина протягом всього цього часу може бути джерелом інфекції для інших дітей.

Інкубаційний період триває від 11 до 24 днів (частіше 16-20). Загальний стан хворих на краснуху страждає мало, тому часто першим симптомом, що звертає на себе увагу, є висип. Хворі відзначають невелику слабкість, нездужання, помірний головний біль, іноді болі в м'язах і суглобах. Температура тіла частіше залишається субфебрильною, хоча іноді досягає 38-39 °C і тримається 1-3 дні. При об'єктивному обстеженні з'являються слабо виражені симптоми катару верхніх дихальних шляхів, невелика гіперемія зіву, ін'єкція судин кон'юнктиви. З перших днів хвороби з'явля-

ється генералізована лімфаденопатія. Особливо виражено збільшення і хворобливість задньошийних і потиличних лімфатичних вузлів. Іноді всі ці симптоми виражені слабо, і хвороба звертає на себе увагу лише при появі висипу. Захворювання може протікати в різних формах. Загальноприйнятої класифікації клінічних форм краснухи немає.

Характерним проявом краснухи є висип. Часто висип з'являється вже в перший день хвороби (40 %), але може з'явитися на другий (35 %), третій (15 %) і навіть на четвертий день (у 10 % хворих). В деяких випадках саме висип звертає на себе увагу, оскільки легке нездужання перед висипанням не вважалось яким-небудь захворюванням. Частіше висип спочатку помічають на обличчі, а потім протягом доби він з'являється на тулубі і на кінцівках. На відміну від кору відсутня етапність висипання. Висип рясніший на розгинальних поверхнях кінцівок, на спині, попереку, сідницях. На обличчі висип менш виражений, чим на тулубі (при корі навпаки). На відміну від скарлатини елементи висипу розташовані на тлі нормальної (негіперемійованої) шкіри. Основним елементом висипу є маленька пляма (діаметром 5-7 мм), що не підноситься над рівнем шкіри, зникаюча при натисканні на шкіру або при розтяганні її. Типовою є дрібноплямистий сип (у 95 %), хоча у окремих хворих він може бути і великоплямистим (діаметр плям 10 мм і більш). Разом з плямами можуть зустрічатися плоскі розеоли діаметром 2-4 мм, рідше спостерігаються папули. Елементи висипу, як правило, роздільні, проте деякі з них можуть зливатися, утворюючи крупніші плями з фестончатими краями, але ніколи не утворюється обширних еритематозних поверхонь (як це буває при корі або інфекційній еритемі), дуже рідко виявляються одиничні петехії (у 5 %).

Імунітет. Після перенесеної інфекції імунітет стійкий довічний.

Лабораторна діагностика. Досліджуваний матеріал - виділення носоглотки, кров, сеча, фекалії, шматочки органів загиблого плоду. Вірус виділяють в культурах клітин. Діагноз краснухи можна підтвердити або за допомогою виділення і ідентифікації вірусу, або за наростанням титрів специфічних антитіл. Ідентифікують виділений вірус за допомогою РГГА. Для серодіагностики використовують РІФ, ІФА, РІА, РГГА. Серологічні реакції ставлять з парними сироватками з інтервалом 10-14 днів. Діагностичним є наростання титру антитіл в 4 рази і більш. Виділення і ідентифікація вірусу досить складні і в практичній роботі майже не використовуються.

Специфічна профілактика і лікування. Основна мета вакцинопрофілактики при краснусі полягає в захисті вагітних жінок і як наслідок - в попередженні інфікування плоду і народження дітей з синдромом природженої краснухи. Вакцинацію проводять в багатьох країнах. В Україні і Росії щеплення проти краснухи не включене в календар, оскільки вітчизняна вак-

цина не виробляється. Існують зарубіжні краснушні живі атенуйовані вакцини, що випускаються у вигляді моно-, а також ди- і тривакцини (паротит - кір - краснуха). У більшості країн проводять двократну імунізацію дітей молодшого і шкільного віку (у 18 міс і 12-14 років). Лікування симптоматичне.

Прогноз при краснусі сприятливий, за винятком краснушного енцефаліту, при якому летальність досягає 50 %. При природженій краснусі деякі дефекти розвитку (наприклад, глухота) можуть розвинутися пізніше (через рік).

Конкретні цілі:

1. Вивчити загальну характеристику сімейства *Togaviridae*.
2. Вивчити морфологію і антигенні властивості вірусу краснухи.
3. Знайомиться з епідеміологією і основними клінічними проявами краснухи.
4. Вивчити методи лабораторної діагностики краснухи.
5. Особливості діагностики краснухи у вагітних і новонароджених.
6. Вивчити методи лікування і профілактики краснухи.
7. Вивчити загальну характеристику сімейства *Paramyxoviridae*
8. Вивчити морфологію і антигенні властивості вірусу кору.
9. Епідеміологія і основні клінічні ознаки кору.
10. Методи лабораторної діагностики, лікування і профілактики кору.

Уміти:

1. Проводити відбір досліджуваного матеріалу для лабораторної діагностики.
2. Володіти методикою зараження культури клітин матеріалом, узятим від хворого.
3. Володіти методикою проведення методу інтерференції.

Теоретичні питання:

1. Характеристика сімейства *Togaviridae* і роду *Rubivirus*.
2. Епідеміологія, патогенез і основні клінічні форми краснухи.
3. Методи лабораторної діагностики краснухи.
4. Особливості діагностики краснухи у вагітних і новонароджених.
5. Методи лікування і профілактики краснухи.
6. Морфологія і антигенна структура вірусу кору.
7. Методи лабораторної діагностики кору.
8. Методи лікування і специфічної профілактики кору.

Практичні завдання, що виконуються на занятті:

1. Вивчення демонстраційних препаратів.
2. Розбір схеми лабораторної діагностики краснухи.
3. Розбір схеми лабораторної діагностики кору.
4. Зарисовка демонстраційних мікропрепаратів в протокол.

5. Оформлення протоколу.

Література:

1. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / Под ред. А. А. Воробьева. – М. : ООО «Медицинское информационное агенство», 2006. – 704 с.
2. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / Под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова. – М. : ООО «Медицинское информационное агенство», 2003. – 236 с.
3. Поздеев О. К. Медицинская микробиология / О. К. Поздеев. – [под ред. В. И. Покровского] – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 765 с.

Додаткова література:

1. Букринская А. Г. Вирусология / А. Г. Букринская. – М. : Медицина, 1986. – 336 с.
2. Шувалова Е. П. Инфекционные болезни / Е. П. Шувалова. – [5-е изд., перераб. и доп.]. – М. : Медицина, 2001. – 642 с.

Короткі методичні вказівки до практичного заняття:

На початку заняття проводиться перевірка рівня знань студентів по темі. Самостійна робота складається з вивчення демонстраційних препаратів і розбору схем лабораторної діагностики кору і краснухи, заповнення протоколу. В кінці заняття проводиться тестовий контроль і аналіз підсумкових результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. Серед дітей в дитячому саду виникла краснуха. Для лабораторного дослідження у них узяли кров. Яка з приведених серологічних реакцій НЕ використовується для діагностики даного захворювання?

А. РГГА. В. РН. С. РЗК. D. РП. Е. Всі вищеперелічені.

2. У пологовому відділенні при обстеженні новонародженого були виявлені аномалії розвитку. У анамнезі, мати в період вагітності перенесла вірусну інфекцію, яка супроводжувалася висипом, запаленням лімфатичних вузлів. Яка з приведених нижче інфекцій зумовила аномалію розвитку плоду?

А. Краснуха. В. Поліомієліт. С. Грип.

D. Кір. Е. Епідемічний паротит.

3. При обстеженні новонародженої дитини з підозрою на TORCH-інфекцію в крові були виявлені IgM до вірусу краснухи. Про що свідчить отриманий результат?

А. Про перенесену внутрішньоутробну інфекцію.

В. Про те, що мати дитини в дитинстві перенесла краснуху.

С. Про перебіг інкубаційного періоду у дитини.

D. Про перебіг інкубаційного періоду у матері.

Е. Всі відповіді не вірні.

4. Молода жінка, що знаходиться на 6 тижні вагітності була у контакті з дитиною, у якої діагностували краснуху. Які заходи необхідно зробити лікареві у зв'язку з ситуацією, що склалася?

- A. Негайно ввести вакцину.
- B. Ввести специфічний імуноглобулін.
- C. Призначити курс антибіотикотерапії.
- D. Рекомендувати жінці перервати вагітність.
- E. Ніяких заходів приймати поки не слід.

5. У дитини, видужуючої після кору, розвинулася пневмонія, викликана умовно-патогенними бактеріями. Яка найбільш вірогідна форма цієї інфекції?

- A. Суперінфекція.
- B. Персистуюча інфекція.
- C. Вторинна інфекція.
- D. Реінфекція.
- E. Шпитальна інфекція.

6. У дитини 6 років лікар на підставі наявності характерного висипу, який з'явився 2 дні тому, запідозрив краснуху. Який метод лабораторної діагностики найдодільніше застосувати в даному випадку?

- A. Провести виділення вірусу з крові хворого і його ідентифікацію.
- B. Провести виділення вірусу в змиві з носоглотки.
- C. Застосувати електронну мікроскопію.
- D. Провести РГГА з сироваткою крові хворого.
- E. Всі перераховані методи прийнятні в даній ситуації.

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Перевірка рівня підготовки студентів до заняття: тести і опитування.

2. Вивчення загальної характеристики сімейства *Togaviridae*.

3. Вивчення морфології і антигенних властивостей вірусу краснухи.

4. Ознайомлення з епідеміологією і основними клінічними проявами краснухи.

5. Розбір схеми лабораторної діагностики краснухи.

6. Вивчення методів лікування і профілактики краснухи.

7. Вивчення загальної характеристики сімейства *Paramyxoviridae*

8. Вивчення морфології і антигенних властивостей вірусу кору.

9. Розбір схеми лабораторної діагностики кору.

10. Ознайомлення з методами специфічної профілактики кору.

11. Мікроскопія демонстраційних препаратів і їх зарисовка.

12. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 10

Тема: Параміксовіруси. Віруси парагрипу людини і епідемічного паротиту.

Мета: Вивчення лабораторної діагностики парагрипу і епідемічного паротиту.

Модуль 3. Загальна і спеціальна вірусологія.

Змістовний модуль 16. Спеціальна вірусологія.

Тема 6. Параміксовіруси.

Актуальність теми. Віруси парагрипу

Парагрип (parainfluenza - англ., paragrippe - франц.) - гостре респіраторне вірусне захворювання, що характеризується помірно вираженою загальною інтоксикацією, ураженням верхніх дихальних шляхів, переважно гортані.

Таксономія. Вперше виділені в 1956 р. Віруси містять РНК, відносяться до сімейства Paramyxoviridae, роду Paramyxovirus, представлені 5 серотипами.

Морфологія, антигенна структура. Віруси парагрипу відносяться до групи параміксовірусів, що містять РНК. Морфологія вірусів відрізняється поліморфізмом, частіше зустрічаються віріони округлої форми діаметром 100-300 нм. Віруси мають складноорганізовану структуру, складаються з серцевини, РНК, білків, і зовнішньої ліпопротеїдної оболонки з шипіками. В даний час відомо 4 типи вірусів парагрипу, виділених від людини. Їм не властива, як вірусам грипу, варіабельність антигенної структури. Володіють гемаглютинуючою активністю.

Культивування. Парагрипозні віруси аглютинують еритроцити людини (0 групи), курей, морських свинок, мавп. Специфічні імунні сироватки гальмують реакцію гемаглютинації. Гемаглютинуючі і комплементзв'язуючі антитіла строго специфічні.

Резистентність. Віруси нестійкі в зовнішньому середовищі, при кімнатній температурі зберігаються не більше 4 год, а повна їх інактивація відбувається після 30-хвилинного прогрівання при температурі 50 °С. Віруси парагрипу добре репродукуються в культурах клітин, викликаючи характерний цитопатичний ефект (злиття клітин і утворення багатоядерних клітин, званих симпластами або синцитієм), а також феномен гемадсорбції.

Сприйнятливість тварин. У природних умовах непатогенні для тварин.

Епідеміологія. Резервуаром і джерелом інфекції є людина, хвора на клінічно виражену або стерту форму парагрипу. Інфекція передається по-

вітряно-краплинним шляхом. Віруси типів 1, 2 і 3 поширені повсюдно і викликають захворюваність у будь-яку пору року. Парагрипозні віруси обумовлюють до 20 % гострих респіраторних захворювань у дорослих і до 30 % - у дітей.

Патогенез і клінічна картина. Воротами інфекції є слизисті оболонки респіраторного тракту, особливо носа і гортані, де виникають виражені запальні зміни. Глотка і трахея залучаються до процесу рідше і у меншій мірі. Парагрипозні віруси репродукуються в клітинах епітелію дихальних шляхів, руйнуючи при цьому самі клітини. Віруси, що розмножилися, і продукти розпаду епітеліальних клітин частково проникають в кров, сприяючи розвитку лихоманки і інших симптомів інтоксикації, яка при парагрипі слабо виражена. У дітей із-за набряку слизистої оболонки гортані і її запальної інфільтрації може виникнути синдром «несправжнього крупу». У виникненні пневмоній, як і при грипі, істотну роль грає бактерійна флора, що приєдналася.

Інкубаційний період коливається від 2 до 7 днів, частіше 3-4 дні. У більшості хворих парагрип протікає як короткочасне захворювання (не більше 3-6 днів), без вираженої загальної інтоксикації. Захворювання виникає гостро лише у половини хворих, у решти воно починається поволі, із-за чого хворі не завжди звертаються за медичною допомогою в перший день хвороби. Інтоксикація при парагрипі виражена нерізно, але з'являється у більшості хворих. Турбує субфебрильна температура тіла, загальна слабкість, головний біль. У клінічній картині переважають ознаки ураження верхніх відділів респіраторного тракту. Частими проявами парагрипу є болі і першіння в горлі, закладеність носа, сухий кашель, симптоми ринофарингита. Ларингіт і трахеїт у дорослих зустрічаються порівняно рідко (14-20 %), значно частіше у дітей. Крім того, у них може виникнути гострий ларингіт з синдромом стенозу гортані («несправжній круп»).

Найбільш частим ускладненням як у дітей, так і у дорослих є пневмонія. З її появою процес набуває гостролихоманковий характер із значним підвищенням температури, ознобом, сильним головним болем, болями в грудях, посиленням кашлем із виділенням мокротиння, іноді з домішкою крові. Вислуховуються звучні дрібнопухирчасті вологі хрипи, частіше над нижніми долями легень. Зміни в легенях обумовлені вторинною бактерійною флорою і утримуються до 3-4 тиж і більш.

Імунітет. Імунітет нетривалий, типоспецифічний.

Лабораторна діагностика. Виділення вірусів з секрету носоглотки проводять в культурах клітин, ідентифікують за допомогою РН, РІФ, РГГА, РЗК. Для лабораторного підтвердження діагнозу найбільш швидким є виявлення вірусних антигенів в епітеліальних клітинах слизистої оболонки

носа за допомогою імуофлюоресцентного методу. Чіткіші результати дає серологічний метод. За допомогою РГГА і РЗК досліджують парні сироватки, узяті з інтервалом 10-14 днів. Наростання титру антитіл до якого-небудь типу парагрипозних вірусів в 4 і більше разів підтверджує діагноз. Проте серологічний метод придатний лише для ретроспективної діагностики.

Лікування. Хворі з неускладненим перебігом парагрипу отримують симптоматичне лікування в амбулаторно-поліклінічних умовах (вдома). При розвитку ускладнень (3-4 % всіх хворих) лікування проводиться в інфекційному стаціонарі.

Прогноз при парагрипі сприятливий.

Профілактика парагрипу більшою мірою заснована на проведенні протиепідемічних заходів, необхідних при повітряно-краплинних інфекціях.

Вірус епідемічного паротиту

Епідемічний паротит (синоніми: свинка, заушниця; mumps, parotitis epidemica – англ., від гр. para – біля, otos – вухо) – гостра вірусна хвороба, що характеризується лихоманкою, загальною інтоксикацією, збільшенням однієї або декількох слинних залоз, нерідко ураженням інших органів і центральної нервової системи. Вірус вперше виділений в 1934 р.

Таксономія. Вірус, що містить РНК, відноситься до сімейства Paramyxoviridae, роду Paramyxovirus.

Морфологія, антигенна структура. По морфології і структурній організації антигенів схожий з іншими параміксовірусами. Віріони поліморфні, округлі віріони мають діаметр 120-300 нм. Вірус містить РНК, володіє гемаглютинуючою, нейрамінідазною і гемолітичною активністю. Антигенна структура вірусу стабільна. Він містить антигени, здатні викликати утворення нейтралізуючих і комплементзв'язуючих антитіл.

Культивування. Вірус аглютинує еритроцити курей, качок, морських свинок, собак і ін. У лабораторних умовах вірус культивується на 7-8-денних курячих ембріонах і клітинних культурах. Про розмноження вірусів в культурах клітин свідчать утворення гігантських багатоядерних клітин - симпластів, формування включень у цитоплазмі, здатність уражених клітин до гемадсорбції. До вірусу чутливі первинно трипсинізовані культури клітин нирки морської свинки, мавп, сірійського хом'яка, фіброblastи курячих ембріонів. Лабораторні тварини малочутливі до вірусу паротиту, тільки у мавп вдається відтворити захворювання, схоже з паротитом людини.

Резистентність. Вірус нестійкий, інактивується при нагріванні, при ультрафіолетовому опромінюванні, при контакті з жиророзчинниками, 2 % розчином формаліну, 1 % розчином лізолу, спиртом, температурі 50 °С.

Епідеміологія. Епідемічний паротит поширений повсюдно. Джерелом інфекції є хворі з клінічно вираженими і стертими формами інфекції. Хворий стає заразливим за 1-2 дні до появи клінічних симптомів і в перших 5 днів хвороби. Після зникнення симптомів хвороби пацієнт незаразливий. З організму хворого вірус виділяється зі слиною. Механізм передачі - аерогенний, хоча повністю не можна виключити можливість передачі через забруднені предмети (наприклад, іграшки). Сприйнятливість до інфекції висока (наближається до 100 %). Частіше хворіють діти. Особи чоловічої статі хворіють на паротит в 1,5 рази частіше, ніж жінки. Захворюваність характеризується вираженою сезонністю (індекс сезонності 10). Максимум захворюваності доводиться на березень-квітень, мінімум - на серпень-вересень. Через 1-2 роки спостерігаються періодичні підйоми захворюваності. Зустрічається у вигляді спорадичних захворювань і у вигляді епідемічних спалахів. У 80-90 % дорослого населення в крові можна виявити антитіла проти паротиту, що свідчить про широке розповсюдження цієї інфекції (у 25 % інфікованих інфекція протікає інапартантно). Після введення в практику імунізації живою вакциною захворюваність на епідемічний паротит значно знизилася.

Патогенез. Вхідними воротами інфекції служить слизова оболонка верхніх дихальних шляхів (можливо, мигдалини). Збудник проникає в слинні залози не через привушну (стенонову) протоку, а гематогенним шляхом. Вірусемія є важливою ланкою патогенезу паротиту, що доводиться можливістю виділення вірусу з крові вже на ранніх етапах хвороби. Вірус розноситься по всьому організму і знаходить сприятливі умови для розмноження (репродукції) в залізистих органах, а також в нервовій системі. Ураження нервової системи і інших залізистих органів може наставати не тільки після ураження слинних залоз, але і одночасно, раніше і навіть без ураження їх (дуже рідко). Вдавалося виділити вірус паротиту не тільки з крові і слинних залоз, але і з тестикулярної тканини, з підшлункової залози, з молока хворої на паротит жінки. При паротиті в організмі виробляються специфічні антитіла (нейтралізуючі, комплементзв'язуючі і ін.), що виявляються протягом декількох років, і розвивається алергічна перебудова організму, що зберігається дуже довго (можливо, протягом всього життя).

Інкубаційний період продовжується від 11 до 23 днів (частіше 15-19 днів). У деяких хворих за 1-2 дні до розвитку типової картини хвороби спостерігаються продромальні явища у вигляді розбитості, нездужання, болів у м'язах, головного болю, ознобу, порушення сну і апетиту. З розвитком запальних змін слинної залози всі симптоми інтоксикації стають більш вираженими, з'являються ознаки, пов'язані з ураженням слинних

залоз, - сухість у роті, болі в області вуха, що посилюються при жуванні, розмові.

Епідемічний паротит може протікати в різних клінічних формах.

А. Маніфестні форми:

1. Неускладнені: ураження тільки слинних залоз, однієї або декількох.

2. Ускладнені: ураження слинних залоз і інших органів (менінгіт, менінгоенцефаліт, панкреатит, орхіт, мастит, міокардит, артрити, нефрит).

Б. Інпаарантна форма інфекції.

В. Резидуальні явища епідемічного паротиту: атрофія яєчок; безпліддя; діабет; глухота; порушення функцій ЦНС (менінгіт, енцефаліт), міокарду, суглобів, нирок.

За тяжкістю перебігу: легкі (зокрема стерті і атипові); середньоважкі; важкі.

У типових випадках лихоманка досягає максимальної вираженості на 1-2-й день хвороби і продовжується 4-7 днів, зниження температури частіше відбувається літично. Характерний симптом хвороби - ураження слинних залоз (у більшості хворих привушних). Ділянка збільшеної залози хвороблива при пальпації. Збільшення слинної залози швидко прогресує і протягом 3 днів досягає максимуму. На цьому рівні припухлість тримається 2-3 дні і потім поступово (протягом 7-10 днів) зменшується.

Ускладнення. При епідемічному паротиті ускладнення частіше виявляються в ураженні залізистих органів і центральної нервової системи. При захворюваннях дітей одним з частих ускладнень є серозний менінгіт. Як правило, симптоми ураження нервової системи з'являються після запалення слинних залоз, але можливо і одномоментне ураження слинних залоз і нервової системи (у 25-30 %). У деяких хворих, крім менінгеальних симптомів, розвиваються ознаки енцефаліту (менінгоенцефаліт) або енцефаломієліту. У хворих з'являється порушення свідомості, млявість, сонливість, нерівномірність сухожильних і періостальних рефлексів, парези лицьового нерва і ін.

Орхіти частіше спостерігаються у дорослих. Частота їх залежить від тяжкості хвороби (при середньоважких і важких формах орхіти виникають приблизно у половини хворих). Ознаки орхіту з'являються на 5-7-й день від початку захворювання і характеризуються новою хвилею лихоманки (до 39-40 °С), появою сильних болів в області мошонки і яєчка, іноді ірадіюючих в нижні відділи живота. Яєчко збільшується, досягаючи розмірів гусячого яйця. Лихоманка тримається 3-7 днів, збільшення яєчка - 5-8 днів. Потім болі проходять, і яєчко поступово зменшується в розмірах. Надалі (через 1-2 міс) можуть з'явитися ознаки атрофії яєчка, яка

з'являється у 50 % хворих, що перенесли орхіт (якщо не призначалися кортикостероїди на початку розвитку ускладнення).

Гострий панкреатит розвивається на 4-7-й день хвороби. З'являються різкі болі в епігастральній ділянці, нудота, багатократна блювота, лихоманка, при огляді у деяких хворих з'являється напруга м'язів живота і симптоми подразнення очеревини.

Ураження органу слуху іноді приводить до повної глухоти. Першою ознакою служить поява шуму і дзвону у вухах. Про лабіринтит свідчать запаморочення, блювота, порушення координації рухів. Зазвичай глухота буває односторонньою (на стороні ураження слинної залози). У періоді реконвалесценції слух не відновлюється.

Артрита розвиваються приблизно у 0,5 % хворих, частіше у дорослих, причому у чоловіків частіше, ніж у жінок.

В даний час встановлено, що вірус паротиту у вагітних може зумовити ураження плоду. Зокрема, у дітей з'являється своєрідна зміна серця - так званий первинний фіброеластоз міокарду. Інші ускладнення (простатити, мастити, тиреоїдити, бартолініти, нефрит, міокардит) спостерігаються рідко.

Імунітет. Після перенесеної хвороби формується стійкий довічний імунітет. Діти в перші 6 міс життя мають пасивний природний імунітет і не хворіють на паротит.

Лабораторна діагностика. Як досліджуваний матеріал можна використовувати слину, виділення носоглотки, сечу, при ураженнях ЦНС – спинномозкову рідину.

Експрес-метод діагностики - РІФ. Вірус виділяють в культурах клітин або на курячих ембріонах. Ідентифікацію виділеного вірусу здійснюють за допомогою РІФ, РН, гальмування гемадсорбції, РГГА, РЗК. Для серодіагностики використовують РГГА, РЗК, ІФА.

Імунофлюоресцентні методи дозволяють виявити віруси на клітинній культурі вже через 2-3 дні (при стандартному методі дослідження - лише через 6 днів). Імунофлюоресцентний метод дозволяє виявити вірусний антиген безпосередньо в клітинах носоглотки, що дає можливість найшвидше отримати відповідь. Серологічні методи дозволяють виявити наростання титру антитіл тільки через 1-3 тиж від початку захворювання, для чого використовують різні методи. Найбільш інформативним є твердофазний імуоферментний аналіз, пізніші результати отримують за допомогою простіших реакцій (РЗК і РГГА). Досліджують парні сироватки; перша береться на початку хвороби, друга - через 2-4 тиж. Діагностичним вважається наростання титру в 4 рази і більше. Може бути використана внутрішньошкірна проба з антигеном (алергеном). Діагностичним вважається перехід негативної проби в позитивну. Якщо шкірна проба буде по-

зитивною вже в перші дні хвороби, то це свідчить про те, що людина раніше перенесла паротит.

Лікування. Лікування епідемічного паротиту симптоматичне.

Прогноз сприятливий, летальні результати бувають дуже рідко (1 на 100000 хворих); проте слід враховувати можливість глухоти і атрофії яєчок з подальшою азооспермією.

Профілактика і заходи у вогнищі. Хворих на епідемічний паротит можна лікувати удома. Госпіталізують хворих з важкими ускладненими формами, а також за епідеміологічними показаннями. Ізолюють хворих у будинку протягом 9 днів. У дитячих установах, де виявлений випадок захворювання на паротит, встановлюється карантин на 21 день. Дезинфекція у вогнищах паротиту не проводиться.

Для специфічної профілактики використовують живу вакцину проти паротиту з атенуйованого штаму Ленінград-3 (Л-3), розроблену А.А. Смородинцевим. Вакцина вводиться парентерально (одноразово, підшкірним або внутрішньошкірним методом) дітям у віці 12-15 міс.

Конкретні цілі:

1. Ознайомитися з біологічними властивостями і класифікацією параміксовірусів
2. Описувати епідеміологію і патогенез вірусів парагрипу і паротиту.
3. Вивчити методи мікробіологічної діагностики захворювань, викликаних вірусами парагрипу і паротиту.
4. Ознайомитися з методами профілактики захворювань, викликаних вірусами парагрипу і паротиту.

Уміти:

1. Проводити диференціацію вірусів парагрипу і паротиту
2. Забирати матеріал для дослідження від хворих із захворюваннями, викликаними вірусами парагрипу і паротиту.
3. Виділяти і проводити ідентифікацію вірусів парагрипу і паротиту.
4. Трахувати результати мікробіологічного дослідження клітинних культур в нормі і з ЦПД вірусів парагрипу.
5. Трахувати результати серологічного дослідження сироватки хворих із захворюваннями, викликаними вірусами парагрипу і паротиту.

Теоретичні питання:

1. Будова вірусів парагрипу і епідемічного паротиту.
2. Шляхи зараження і патогенез парагрипу і епідемічного паротиту. Елементи клініки.
3. Особливості імунітету.
4. Лабораторна діагностика парагрипу і епідемічного паротиту.

5. Специфічна терапія і профілактика парагрипу і епідемічного паротиту.

Практичні завдання, що виконуються на занятті:

1. Мікроскопія мікропрепаратів з клітинних культур в нормі і з ЦПД вірусів парагрипу і паротиту.
2. Зарисовка демонстраційних мікропрепаратів в протокол.
3. Оформлення протоколу.

Література:

1. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / Под ред. А. А. Воробьева. – М. : ООО «Медицинское информационное агенство», 2006. – 704 с.
2. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / Под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова. – М. : ООО «Медицинское информационное агенство», 2003. – 236 с.
3. Поздеев О. К. Медицинская микробиология / О. К. Поздеев. – [под ред. В. И. Покровского] – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 765 с.

Додаткова література:

1. Букринская А. Г. Вирусология / А. Г. Букринская. – М. : Медицина, 1986. – 336 с.
2. Шувалова Е. П. Инфекционные болезни / Е. П. Шувалова. – [5-е изд., перераб. и доп.]. – М. : Медицина, 2001. – 642 с.

Короткі методичні вказівки до практичного заняття:

На початку заняття проводиться перевірка рівня знань студентів по темі.

Самостійна робота складається з вивчення методів мікробіологічної діагностики захворювань, викликаних параміксовірусами. Студенти вивчають схему класифікації параміксовірусів, знайомляться з методами ідентифікації вірусів. Далі студенти вчаться трактувати результати серологічного дослідження сироватки хворих на парагрип і паротит. Потім студенти замальовують мікропрепарати і дають необхідні пояснення. До складу самостійної роботи входить також мікроскопія демонстраційних препаратів і їх зарисовка, заповнення протоколу.

В кінці заняття проводиться тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. У дитячому саду виник спалах захворювання, викликаного вірусом парагрипу. За допомогою якої серологічної реакції можливо виявити вірус у слизовій оболонці верхніх дихальних шляхів?

- | | | |
|---------------------------------|--------|---------|
| A. РА. | B. РП. | C. РІФ. |
| D. Реакції імунного прилипання. | | E. РЗК. |

2. Дитина 4 років була виписана з інфекційної лікарні з діагнозом «парагрип 2 типу». Опісля декілька днів вона знов була доставлена в лікарню з клінічними ознаками парагрипу. Після лабораторної діагностики був поставлений діагноз «парагрип 2 типу». Як називається даний тип інфекції?

- А. Суперінфекція. В. Реінфекція. С. Вторинна інфекція.
D. Інапарантна інфекція. Е. Всі відповіді не вірні.

3. Після узяття матеріалу у хворого з підозрою на парагрипозну інфекцію лаборант провів зараження культури клітин. На підставі якого дослідження можна підтвердити або спростувати діагноз?

- А. РА. В. РГА. С. Реакції гемадсорбції.
D. РП. Е. Вірно все.

4. В культурі клітин, зараженій матеріалом, узятим від хворого на ГРВІ, був виявлений цитопатичний ефект, характерний для вірусу парагрипу. Яка серологічна реакція допоможе ідентифікувати вірус?

- А. РЗК. В. РН. С. РПГА.
D. Вірно все вищеперелічене. Е. Вірно тільки А і В.

5. У віці 12-15 місяців проводять обов'язкову специфічну профілактику епідемічного паротиту. Яку вакцину при цьому використовують?

- А. Живу вакцину Себіна. В. Інактивовану вакцину Солка.
C. Живу вакцину. D. БЦЖ. Е. АКДП.

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Перевірка рівня підготовки студентів до заняття: тести і опитування.
2. Вивчення методів мікробіологічної діагностики вірусів епідемічного паротиту і парагрипу.
3. Вивчення схеми виділення вірусів епідпаротиту і парагрипу на курячих ембріонах і лабораторних тваринах.
4. Мікроскопія клітинних культур в нормі і з ЦПД вірусів парагрипу і паротиту.
5. Ознайомлення з методами ідентифікації вірусів за допомогою реакції нейтралізації.
6. Вивчення методів серологічного дослідження сироватки хворих на парагрип і епідпаротит.
7. Зарисовка мікропрепаратів в протокол.
8. Мікроскопія демонстраційних препаратів і їх зарисовка.
9. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 11

Тема: Лабораторна діагностика вірусних гепатитів.

Мета: Вивчення методів лабораторної діагностики вірусних гепатитів.

Модуль 3. Загальна і спеціальна вірусологія.

Змістовний модуль 16. Спеціальна вірусологія.

Тема 13. Збудники вірусних гепатитів.

Актуальність теми. На долю вірусних гепатитів в Україні випадає приблизно 20 % всіх вірусних захворювань, які приводять до тривалої втрати працездатності: гострі некрози печінки, цирози, первинний рак печінки. Вірус гепатиту А викликає епідемічний гепатит (інфекційну епідемічну жовтяницю, хворобу Боткіна). За морфологічними і фізико-хімічними характеристиками схожий на ентеровіруси. Вірус гепатиту В описаний в 1970 р. і отримав назву частинки Дейна. Це складний вірус, який містить ДНК. Викликає сироватковий гепатит. За останні роки спостерігається зростання захворюваності на цю форму гепатиту.

Вірус гепатиту А

Гепатит А (хвороба Боткіна) - інфекційне захворювання з фекально-оральним шляхом передачі, клінічно і морфологічно характеризується ураженням печінки з розвитком симптомокомплексу гострого гепатиту. Захворювання відоме з глибокої старовини, його опис містять праці Гіппократа. Вірус вперше виділив С. Фейстоун (1973).

Таксономія. В даний час вірус гепатиту А включений в рід Hepatovirus сімейства Picornaviridae.

Морфологія. Зрілі віріони сферичної форми мають розмір 25-27 нм. Геном утворює несеgmentована молекула +РНК. Нуклеокапсид організований за типом кубічної симетрії: утворений капсомерами, що складаються з чотирьох білків (VP1-4). Суперкапсид відсутній.

Антигенна структура. Збудник представлений одним антигенним типом і містить головний антиген (НА-Аг), за яким його ідентифікують.

Епідеміологія. Резервуар збудника - хвора людина. Хворий виділяє збудник протягом 2-3 тижнів до початку і протягом перших 3-5 діб жовтяничного періоду. Передача збудника відбувається фекально-оральним шляхом (через воду, харчові продукти, брудні руки, різні предмети). Вірус гепатиту А стійкий в навколишньому середовищі, при 21 °С зберігається декілька тижнів; повністю інактивується при температурі 85 °С. Вірус добре переносить низькі температури, стійкий до хлору, завдяки чому зберігається в очищеній харчовій воді. Фекальне забруднення джерел во-

докористування може викликати формування епідемічних спалахів. Пік захворюваності доводиться на холодний сезон (пізня осінь або зима). Після перенесеного захворювання формується стійка несприйнятливність до повторних заражень.

Патогенез. Потрапляючи в організм з водою або їжею, вірус гепатиту А розмножується в епітелії слизової оболонки тонкої кишки і регіонарних лімфатичних тканинах. Потім настає фаза короткочасної вірусемії. Максимальна концентрація вірусу в крові виникає в кінці інкубаційного періоду і в переджовтяничному періоді. В цей час збудник виділяється з фекаліями. Основна мішень для цитопатогенної дії - гепатоцити. Репродукція вірусу в їх цитоплазмі приводить до загибелі клітин. Цитопатичний ефект посилюють імунні механізми, зокрема NK-клітини, активовані інтерферони (ІФН), синтез якого індукується вірусом.

Принципи мікробіологічної діагностики. Маркери реплікації вірусу - антитіла (IgM і IgG) до антигенів вірусу гепатиту А і вірусна РНК. Вказані маркери визначають в ІФА і РІА. Виявлення Аг вірусу гепатиту А у фекаліях має обмежене значення, оскільки пік його утворення доводиться на інкубаційний і початок жовтяничного періодів. Виявлення Аг вірусу гепатиту А можна використовувати для епідеміологічного обстеження контактних осіб. До зараження вірусом гепатиту А чутливі примати, але в широкій клінічній практиці даний метод діагностики не використовують. Монокультурні культури клітин нечутливі до вірусу гепатиту А, і для виділення збудника переважно використовують лейкоцитарні або органні культури. Вірус відрізняє слабкий цитопатичний ефект.

Лікування і профілактика. Засоби специфічної противірусної хіміотерапії відсутні, лікування симптоматичне. Розроблений сироватковий Ig попереджає розвиток захворювання протягом 3 місяців, але також значно пом'якшує перебіг захворювання. Його застосовують для пасивної імунізації осіб, що прямують в ендемічні райони. Для активної імунопрофілактики вірусного гепатиту А використовують убиті і рекомбінантні вакцини. Загальні профілактичні заходи направлені на поліпшення санітарної обстановки, включають дотримання карантинних заходів, поліпшення умов водопостачання і підвищення гігієнічної культури населення.

Вірус гепатиту В

Гепатит В - інфекційне захворювання з кров'яно-контактним механізмом передачі, що морфологічно і клінічно характеризується ураженням печінки, з розвитком симптомокомплексу гострого і хронічного гепатиту. Збудник вперше виявив Д. Дейн і співавт. (1970).

Таксономія. Вірус гепатиту В включений до складу роду Orthohepadnavirus сімейства Hepadnaviridae.

Морфологія. Віріони вірусу гепатиту В сферичної форми 42 нм в діаметрі, мають суперкапсид. Геном утворює неповна (одна нитка коротша) двонитчаста кільцева молекула ДНК. З короткою “плюс”-ниткою ДНК пов'язаний праймерний білок. До складу серцевини також входить ДНК-залежна ДНК-полімераза. Для ефективної репродукції необхідний синтез ДНК-полімерази, оскільки вірусна ДНК утворюється на матриці РНК; у динаміці процесу вірусна ДНК інтегрує в ДНК клітини. У крові хворих на гепатит В циркулюють частинки трьох морфологічних типів. Найчастіше виявляють сферичні частинки близько 22 нм в діаметрі; рідше - ниткоподібні форми близько 22 нм в діаметрі і 50-230 нм в довжину. Вірусні частинки цих типів не проявляють інфекційних властивостей. Лише 7% частинок представлено комплексними двошаровими сферичними утвореннями з повною структурою - частинки Дейна, що проявляють виражену інфекційність. Їх оболонку на 70 % поверхні утворюють білки.

Антигенна структура. Основні Аг частинок Дейна - поверхневий HBsAg і серцевинний HBcAg. АТ проти HBsAg і HBcAg з'являються протягом захворювання. Наявність АТ проти HBsAg прямо пов'язана з несприйнятливістю до інфекції (постінфекційний або поствакцинальний імунітет).

HBsAg. Перший ідентифікований Аг вірусу гепатиту В; вперше його виділив Б. Блюмберг (1965) з крові австралійського аборигена, тому цей Аг також називають австралійським. HBsAg часто утворює дефектні морфологічні частинки 1-го типу, позбавлені інфекційних властивостей (побічні метаболіти реплікативного циклу). У цитоплазмі заражених клітин виникає надлишок HBsAg, пов'язаного з клітинною мембраною і ендоплазматичним ретикуломом. HBsAg з'являється в крові через 1,5 місяця після інфікування; постійно циркулює в сироватці інфікованих осіб, а його очищені агрегати входять до складу вакцини проти вірусу гепатиту В. HBsAg включає два поліпептидних фрагмента: preS1 володіє вираженими імуногенними властивостями (рекомбінантний продукт можна використовувати для приготування вакцинних препаратів); preS2 - поліглобуліновий рецептор, що приводить до адсорбції вірусу на гепатоцитах.

HBcAg. Серцевинний HBcAg представлений єдиним антигенним типом; його виявляють тільки в серцевині частинок Дейна. Аг маркірує реплікацію вірусу в гепатоцитах. Може бути виявлений тільки при морфологічному дослідженні біоптатів або матеріалу аутопсії печінки. У крові у вільному вигляді його не визначають. Точкові мутації в ділянці, що кодує синтез попередника HBcAg, HBcAg продукуючи мутанти вірусу гепатиту В, спочатку виділені при блискавичних формах гепатиту. Перехід від HbcAg+ в HbcAg- - форми спостерігають у пацієнтів з хронічними, порівняно помірними ураженнями.

НВеАg. Не входить до складу частинок Дейна, але зв'язаний з ними, оскільки з'являється в сироватці в інкубаційному періоді, відразу після появи НВsАg. Утворення НВеАg транслюється на РНК, що містить ділянки для серцевинного Аg і його попередника. Після завершення трансляції молекула НВеАg, що утворюється, виводиться з клітини. Функції НВеАg невідомі; проте НВеАg можна розцінювати як найбільш чутливий діагностичний показник активної інфекції. Виявлення НВеАg у пацієнтів з хронічним гепатитом указує на активацію процесу, що представляє високу епідемічну небезпеку. Аg може бути відсутнім при інфекції, викликаній штамом мутанта вірусу.

НВхАg - найменш вивчений Аg. Імовірно опосередкує злякисну трансформацію клітин печінки.

ДНК з'являється в сироватці одночасно з іншими Аg вірусу. Зникає з кровотоку на початку другого тижня гострого захворювання. Тривале персистування - ознака хронічної інфекції. У діагностиці гострого гепатиту В визначення ДНК використовують рідко.

Епідеміологія. Резервуар збудника - інфікована людина. Механізм передачі інфекції - кров'яно-контактний. Основні шляхи передачі вірусу гепатиту В - ін'єкційний, гемотрансфузійний і статевий. Також показана можливість вертикальної передачі вірусу гепатиту В від матері до плоду. 7-10 % інфікованих стають хронічними носіями. У Росії відзначають 10-15 % зростання захворюваності. Основні групи ризику - медичні працівники; особи, що одержують гемотрансфузії або препарати крові; наркомани, що вводять наркотики внутрішньовенно; хворі на гемофілію; особи, що знаходяться на гемодіалізі; діти матерів-носіїв НВsАg; статеві партнери носіїв вірусу.

Патогенез. Вірус гепатиту В гематогенно заноситься в печінку і розмножується в гепатоцитах. У другій половині інкубаційного періоду (40-180 діб) вірус виділяють з крові, сперми, сечі, фекалій і секрету носоглотки. У патогенезі уражень важливу роль грають аутоімунні гуморальні і клітинні реакції, що підтверджує зв'язок між початком клінічних проявів і появою специфічних АТ. Патологічний процес починається після розпізнавання вірусіндукуючих Аg на мембранах гепатоцитів імунокомпетентними клітинами. Ускладнення хронічної форми обумовлені хронічним запаленням і некротичними процесами в паренхімі печінки; основні ускладнення - цироз і первинна карцинома печінки.

Цироз зазвичай відзначають у страждаючих на хронічний гепатит; щорічно реєструють більше 10000 летальних результатів, обумовлених вірусним гепатитом В.

Карцинома печінки. Показаний чіткий зв'язок між злякисною трансформацією гепатоцитів і перенесеним вірусним гепатитом В. У розвитку

пухлинного процесу беруть участь певні кофактори, багато з яких залишаються невідомими.

Принципи мікробіологічної діагностики. Маркери реплікації вірусу гепатиту В – HBeAg, АТ (IgM) до HBsAg, ДНК вірусу і вірусна ДНК-полімераза. Для виявлення HBsAg і HBeAg застосовують ІФА і РНГА; дослідження доповнюють виявленням ДНК вірусу гепатиту В і вірусної ДНК-полімерази. Вірусоспецифічні АТ до HBsAg, HBcAg, HBeAg визначають в ІФА і РНГА. На наявність “свіжої” інфекції указують високі титри HBsAg, IgM до HBsAg і HBsAg. У пацієнтів з гепатитом, що клінічно виявляється, титр HBsAg спочатку росте, а потім (у міру розвитку імунних реакцій) знижується. АТ до HBsAg можна виявити тільки через декілька тижнів, що пояснюють їх активним зв'язуванням в імунні комплекси. Протягом цього періоду (так званого “вікна”) можна виявити лише АТ до HBcAg.

АТ до HBcAg. Важливий діагностичний маркер інфікування, особливо при негативних результатах виявлення HBsAg.

IgM до HBcAg. Один з найбільш ранніх сироваткових маркерів вірусного гепатиту В. При хронічному гепатиті маркірують реплікацію вірусу і активність процесу в печінці. Їх зникнення є показником або санації організму від збудника, або розвитку інтеграційної фази інфекції.

IgG до HBcAg. Зберігаються протягом багатьох років. Свідчать про наявність інфекції на момент обстеження або в анамнезі.

АТ до HBeAg. Серологічний маркер інтеграції вірусу. У комплексі з IgG до HBcAg і HBsAg свідчать про повне завершення інфекційного процесу.

АТ до HBsAg. Протективні АТ; також утворюються після вакцинації. Стосовно хронічного вірусного гепатиту, можуть свідчити про завершення вірусної інфекції.

АТ до preS1- - preS2-фрагментів HBsAg. Свідчать про розвиток протективного імунітету при завершенні інфекційного процесу. АТ до Pre-S1 виявляють одночасно з АТ до HBcAg.

Лікування. Засоби специфічної терапії відсутні, лікування в основному симптоматичне. Певні перспективи має застосування інгібіторів ДНК-полімерази (наприклад, ламівудина), бета-ІФН і його індукторів. Не дивлячись на те що на терапію ІФН реагують менше 50 % пацієнтів, показано достовірне зникнення всіх маркерів інфекції (ДНК вірусу гепатиту В, HBsAg і HBeAg) і збільшення титрів АТ до HBsAg.

Імунопрофілактика. Пасивна імунізація специфічним Ig (HBIG) показана особам, що контактували з інфікованим матеріалом і носіями HBsAg (включаючи статевих партнерів і дітей, що народилися від HBsAg-позитивних матерів). Для активної імунізації розроблено два типи вакцин.

Перші готують з плазми пацієнтів, що містить Ag вірусу гепатиту В у кількостях, достатніх для створення вакцинних препаратів. Головна умова - повна інактивація вірусу гепатиту В. Другу групу складають рекомбінантні вакцини (наприклад, Recombivax B, Engerix B), отримані методом генної інженерії на культурах пекарних дріжджів (*Saccharomyces cerevisiae*). Масова імунізація - найважливіший компонент боротьби з інфекцією. Дорослі отримують 2 дози протягом місяця і бустерну імунізацію через 6 місяців. Діти отримують першу дозу відразу після народження, наступні - через 1-2 місяці і до кінця першого року життя. Якщо мати HBsAg-позитивна, то дитині вводять специфічні Ig одночасно з першою вакцинацією.

Вірус гепатиту D (гепатит дельта)

Вірус гепатиту D виявив М. Різетто і співавт. (1977) у ядрах гепатоцитів під час незвичайного важкого спалаху сироваткового гепатиту в Південній Європі. Пізніше його стали виявляти повсюдно, особливо часто в Північній Америці і країнах Північно-Західної Європи.

Таксономія, морфологія, антигенна структура. Збудник дельта-гепатита - дефектний вірус роду *Deltavirus* сімейства *Togaviridae*, що містить РНК. Його виділяють тільки від пацієнтів, інфікованих вірусом гепатиту В. Дефектність збудника виявляється в повній залежності від його передачі, репродукції і наявності вірусу гепатиту В. Відповідно, моноінфекція вірусом гепатиту D абсолютно неможлива. Віріони вірусу гепатиту D мають сферичну форму, 35-37 нм в діаметрі. Генوم вірусу утворює одонитчаста кільцева молекула РНК, що зближує вірус гепатиту D з віроїдами. Її послідовності не мають гомології з ДНК збудника гепатиту В, але суперкапсид вірусу D включає значну кількість HBsAg вірусу гепатиту В. Резервуар збудника - інфікована людина; вірус передається парентеральним шляхом. Можлива вертикальна передача вірусу гепатиту D від матері до плоду.

Патогенез і клінічні прояви. Інфікування HBsAg-позитивних осіб супроводжується активним розмноженням вірусу гепатиту D в печінці і розвитком хронічного гепатиту - прогресуючого або фульмінантного. Клінічно виявляється тільки у осіб, інфікованих вірусом гепатиту В. Може протікати в двох варіантах: коінфекція і суперінфекція.

Коінфекція (одночасне зараження вірусами гепатитів В і D). Відзначають короткий продромальний період з високою лихоманкою; часто мігруючі болі в великих суглобах; наростання інтоксикації в жовтяничному періоді; часто больовий синдром (біль в проекції печінки або епігастрії); виникнення через 2-3 тижні від початку захворювання або клініко-лабораторного загострення. Перебіг відносно доброякісний, але відновний період протікає тривалий час.

Суперінфекція - зараження вірусом гепатиту D людини, інфікованої вірусом гепатиту B. Відзначають короткі інкубаційний і переджовтяничний періоди (3-5 днів) з високою лихоманкою, вираженою інтоксикацією, повторною блювотою, больовим синдромом, артралгіями. Характерна виражена жовтяниця, розвиток набряково-асцитичного синдрому, виражена гепатоспленомегалія, повторні клініко-лабораторні загострення. При даному варіанті можливий розвиток злоякісної (фульмінантної) форми захворювання з летальним результатом.

Принципи мікробіологічної діагностики. Для діагностики гострих і хронічних вірусних гепатитів D широко застосовують ІФА і РІА. Маркери реплікації вірусу - АТ (IgM) до Аг вірусу гепатиту D і вірусна РНК. Аг вірусу гепатиту D з'являється в крові через 3 тижні після інфікування. Вірусоспецифічні IgM з'являються через 10-15 днів після розвитку клінічних проявів. Через 2-11 тижнів можна ідентифікувати вірусоспецифічні IgG, постійно циркулюючи у інфікованих осіб.

Лікування і профілактика. Засоби специфічної хіміотерапії і імунпрофілактики відсутні. Оскільки репродукція вірусу гепатиту D неможлива у відсутності збудника гепатиту B, то основні профілактичні заходи повинні бути направлені на попередження розвитку гепатиту B.

Вірус гепатиту С

Гепатит С зазвичай протікає хронічно і характеризується переважним розвитком хронічних форм гепатиту з результатом у цироз і первинну карциному печінки.

Таксономія, морфологія, антигенна структура. Вірус гепатиту С включений до складу роду сімейства Flaviviridae. Віріони сферичної форми діаметром 35-50 нм оточені суперкапсидом. Геном утворює одностатчаста-РНК. Виділяють 6 сероварів, кожен з яких «прив'язаний» до певних країн. Наприклад, в США поширений вірус гепатиту С 1-го типу, в Японії – 2-го.

Патогенез і клінічна картина. Резервуар збудника - інфікована людина. Основний шлях передачі вірусу - парентеральний. Основна відмінність від епідеміології вірусу гепатиту B - нижча здатність вірусу гепатиту С до передачі від вагітної до плоду і при статевих контактах. Хворий виділяє вірус за декілька тижнів до появи клінічних ознак і протягом 10 тижнів після початку проявів. Захворювання частіше реєструють в США (до 90 % всіх трансфузійних гепатитів) і Африці (до 25 %). Для клінічної симптоматики вірусного гепатиту С характерні зміна консистенції і розмірів печінки. При активному процесі печінка зазвичай збільшена і хвороблива при пальпації, її консистенція помірно щільна. Інші прояви включають спленомегалію, диспепсичний і астеничний синдроми, жовтяницю, артра-

лгії і міалгії, кардити, васкуліти, легеневі ураження, анемії і ін. Ускладнення хронічного процесу - цироз і первинна карцинома печінки.

Принципи мікробіологічної діагностики. Маркери реплікації вірусу - АТ (IgM) до Аг вірусу гепатиту С, РНК. Маркери виявляють методами ІФА і ПЛР. Показання для пошуку АТ або РНК вірусу - будь-яке запальне захворювання печінки. Вірусоспецифічні АТ з'являються в середньому через 3 місяці і указують на можливе інфікування вірусом гепатиту С або на перенесену інфекцію. У серонегативний період виявляють РНК вірусу гепатиту С. Для підтвердження результатів ІФА, а також при обстеженні пацієнтів, що не відносяться до основних груп ризику, застосовують метод рекомбінантного імуноблотинга, що дозволяє ефективно виключити хибнопозитивні результати ІФА.

Лікування і профілактика. Засоби етіотропної терапії відсутні; при хронічних інфекціях можна використовувати бета-ІФН. На тлі терапії ІФН у 40-70 % хворих відзначають стихання запального процесу (на що указує зниження вмісту концентрації амінотрансфераз в сироватці), проте після закінчення курсу у 40-50 % пацієнтів спостерігають рецидив запалення. Засоби специфічної імунопрофілактики не розроблені.

Вірус гепатиту Е

Гепатит Е - гостре інфекційне ураження печінки, що виявляється симптомами інтоксикації і, рідше, жовтяницею.

Патогенез і клінічна картина. Вірус гепатиту Е включений в рід *Calicivirus* сімейства *Caliciviridae*. Віріони сферичної форми 27-38 нм в діаметрі. Геном утворений несеgmentованою молекулою +РНК.

Патогенез і клінічна картина. Резервуар збудника - людина. Епідеміологія захворювання багато в чому аналогічна гепатиту А; збудник викликає ендемічні спалахи. Інкубаційний період не перевищує 2-6 тижнів. Захворювання виявляється загальним нездужанням; жовтяницю спостерігають порівняно рідко. В більшості випадків прогноз захворювання сприятливий, і пацієнти повністю видужують. Інфікування вагітних, особливо в III триместрі, може закінчитися фатально (смертність може досягати 20 %). Хронізації процесу не спостерігають. Одуження супроводжується формуванням стійкої несприйнятливості до повторних заражень.

Принципи мікробіологічної діагностики. Маркери реплікації вірусу - АТ (IgM) до Аг вірусу гепатиту Е і вірусна РНК. Вірус-специфічні IgM виявляють методом ІФА, починаючи з 10-12 діб після інфікування; діагностичні титри зберігаються протягом 1-2 місяців. АТ класу IgG до Аг вірусу гепатиту Е з'являються через місяць після перенесеного захворювання. РНК вірусу виявляють в реакціях ПЛР і молекулярній гібридизації. РНК вірусу можна виявляти з першої доби інфікування; проте в жовтяничному періоді виявити її неможливо.

Лікування. Засоби етіотропної терапії і специфічної профілактики відсутні; проводять симптоматичне лікування.

Вірус гепатиту G

Таксономічне положення вірусу гепатиту G залишається невиясненим. Його умовно відносять до сімейства Flaviviridae. Геном утворений несегментованою молекулою +РНК. Нуклеокапсид організований за типом кубічної симетрії. Імовірно, вірус гепатиту G є дефектним вірусом, і для його репродукції необхідна присутність вірусу гепатиту C.

Патогенез і клінічна картина. Резервуар збудника - хворі на гострий або хронічний гепатит G і носії вірусу гепатиту G.

Принципи мікробіологічної діагностики. Маркери реплікації вірусу – АТ (IgM) до Ag вірусу гепатиту G і вірусна РНК. Вірусоспецифічні IgM виявляють методом ІФА, починаючи з 10-12 діб після інфікування; діагностичні титри зберігаються протягом 1-2 місяців. РНК вірусу виявляють в реакціях ПЛР і молекулярній гібридизації. РНК вірусу можна виявляти з першої доби інфікування; проте в жовтяничному періоді виявити її неможливо.

Конкретні цілі:

1. Вивчити вірусні антигени, які виділяють від хворих на гепатит. Поняття про частинку Дейна.
2. Вивчити класифікацію вірусних гепатитів. Віруси гепатитів А і В. Джерела інфекції, шляхи передачі.
3. Ознайомитися з методами лабораторної діагностики вірусних гепатитів.
4. Специфічна і неспецифічна профілактика вірусних гепатитів.

Уміти:

1. Забирати матеріал для дослідження від хворих з підозрою на вірусні гепатити.
2. Інтерпретувати результати бактеріологічних досліджень.
3. Трактувати результати серологічних досліджень сироватки крові хворих з підозрою на вірусні гепатити.

Теоретичні питання:

1. Класифікація вірусів гепатитів.
2. Гепатити з фекально-оральним механізмом передачі: будова вірусів гепатиту А і Е; патогенез; специфічна профілактика.
3. Гепатити з парентеральним механізмом передачі: шляхи зараження, групи ризику.
4. Будова частинки Дейна, антигенна структура.
5. Особливості будови вірусів гепатитів D, C, G, TTV і SEN.
6. Патогенез вірусних гепатитів.

7. Особливості імунітету. Вірусоносійство, гостра і хронічна форма, канцерогенез.

8. Лабораторна діагностика вірусних гепатитів. Серологічні маркери.

9. Специфічна профілактика вірусних гепатитів. Принцип отримання генно-інженерної вакцини.

Практичні завдання, що виконуються на занятті:

1. Вивчення демонстраційних препаратів.
2. Зарисовка демонстраційних мікропрепаратів в протокол.
3. Оформлення протоколу.

Література:

1. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / Под ред. А. А. Воробьева. – М. : ООО «Медицинское информационное агентство», 2006. – 704 с.

2. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / Под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова. – М. : ООО «Медицинское информационное агентство», 2003. – 236 с.

3. Поздеев О. К. Медицинская микробиология / О. К. Поздеев. – [под ред. В. И. Покровского] – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 765 с.

Додаткова література:

Букринская А. Г. Вирусология / А. Г. Букринская. – М. : Медицина, 1986. – 336 с.

Короткі методичні вказівки до практичного заняття:

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття.

Самостійна робота складається з вивчення демонстраційних препаратів, методів профілактики і лікування вірусних гепатитів. Потім студенти замальовують мікропрепарати і дають необхідні пояснення. До складу самостійної роботи входить також вивчення схеми лабораторної діагностики вірусних гепатитів, мікроскопія демонстраційних препаратів і їх зарисовка, заповнення протоколу.

В кінці заняття проводиться тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. У зв'язку з тим, що стоматологи належать до групи ризику по зараженню вірусними гепатитами, їм необхідно провести планову профілактичну вакцинацію. Яку вакцину необхідно при цьому застосувати?

А. Вакцину, яка містить HBs-антиген, отриманий генно-інженерним способом.

В. Вакцину, яка містить HBe-антиген, отриманий із заражених курячих ембріонів.

С. Вакцину, яка містить НВс-антиген, отриманий з організму шимпанзе.

Д. Вакцину проти вірусного гепатиту А.

Е. Вакцину, яка містить антиген вірусного гепатиту С.

2. Гомосексуаліст 21 року поступив в лікарню з жовтяницею, скаргами на світлі випорожнення і темну сечу. При обстеженні виявлено незначне збільшення печінки. У крові: підвищений загальний білірубін, аспаратамінотрансфераза і лужна фосфатаза. При серологічному аналізі на наявність вірусного гепатиту В встановлено: HBsAg - «+», HBeAg- «+», анти-HBs-Ig - «-», анти-HBc- IgM - «+». Як можна інтерпретувати отримані результати?

А. У хворого гепатоцелюлярна карцинома.

В. У хворого печінкова кома.

С. У хворого ВІЛ-інфекція.

Д. У хворого хронічний гепатит В.

Е. У хворого гострий гепатит В.

3. У геном вірусу вісповакцини був інтегрований ген вірусу гепатиту В, який несе інформацію про HBsAg. Рекombінантний вірус планується використовувати як препарат для вакцинації. До якого типу належить отримана таким чином вакцина?

А. Генно-інженерна.

В. Асоційована.

С. Комбінована.

Д. Хімічна.

Е. Синтетична.

4. При обстеженні донора, що тривало не здавав кров, методом ІФА виявлені анти-HBs- антитіла. Про що свідчить в даному випадку позитивний результат ІФА?

А. Про хронічний гепатит С.

В. Про гострий гепатит В.

С. Про хронічний гепатит В.

Д. Про перенесений гепатит В.

Е. Про гострий гепатит С.

5. У хворого виявлений гепатит. Який з гепатитів викликається вірусом з РНК-геномом, нездібним репродукуватися без HBsAg?

А. Гепатит D.

В. Гепатит А.

С. Гепатит В.

Д. Гепатит С.

Е. Гепатит Е.

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Перевірка рівня підготовки студентів до заняття: тести і опитування.

2. Етіологія і епідеміологія вірусних гепатитів.

3. Вивчення таксономії і морфології збудників вірусних гепатитів.

4. Вивчення методів лабораторної діагностики вірусних гепатитів.

5. Мікроскопія демонстраційних препаратів і їх зарисовка.

6. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 12

Тема: Онкогенні віруси. Особливості протипухлинного імунітету.

Мета: Вивчення механізмів вірусного канцерогенезу і особливостей протипухлинного імунітету.

Модуль 3. Загальна і спеціальна вірусологія.

Змістовний модуль 16. Спеціальна вірусологія.

Тема 15. Онкогенні віруси.

Актуальність теми. У більшості розвинених країн світу з'являється тенденція до неухильного зростання захворюваності на злоякісні новоутворення і смертності від них. Думка про те, що ракові пухлини можуть бути викликані вірусами, вперше висловили Боск (1903 р.) і Боррель (1903 р.). Ідея про можливу роль вірусів у виникненні раку була підтримана І.І. Мечниковим. Віруси, що викликають рак у ссавців, були вперше відкриті тільки в 1932-1933 рр. Шоупом. Він описав фіброму і папілому кроликів. Наступним етапом в розвитку вірусної теорії походження пухлин було відкриття Біттнером (1936 р.) вірусу раку молочних залоз мишей. Радянський учений Л.А. Зільбер (1945 р.) висунув інше уявлення про пухлинні віруси, яке до 1960-1961 рр. склалося у вірусогенетичну теорію.

Основні постулати вірусогенетичної теорії Л.А. Зільбера:

1. Природно виникаючі пухлини викликаються вірусами.
2. Пухлинна дія вірусів на клітини принципово відрізняється від інфекційної дії, і процес вірусного канцерогенезу не є інфекційним.
3. Разом з тим пухлинні віруси не відрізняються від вірусів, що викликають інфекційні захворювання, за іншими своїми властивостями, і їх циркуляція в природі підкоряється закономірностям, встановленим для інфекційних агентів.
4. Дія пухлинних вірусів на клітини супроводжується змінами спадкових властивостей клітин.
5. Пухлинна конверсія клітин викликається не вірусом, а його нуклеїновою кислотою. Вірус є тільки носієм того чинника, який викликає пухлинну конверсію.
6. Нова генетична інформація, приношувана нуклеїновою кислотою вірусу в клітину, інкорпорується частково або повністю в геном клітини.
7. Спадкові зміни, обумовлені цим процесом, порушують взаємини між клітинами і регулюючими клітинне розмноження системами організму, унаслідок чого клітини виходять з супідрядності цим останнім і вини-

кає нерегульоване розмноження клітин, що приводить до утворення пухлини.

8. Вірус, що викликає пухлинну конверсію, не приймає участі в розмноженні пухлинних клітин, що вже утворилися. Пухлинні клітини або зовсім не продукують зрілого вірусу або утворюють його неповні (незрілі) форми. У тих же випадках, коли пухлинні клітини продукують зрілий вірус, він є «пасажиром» і не робить впливу на зростання пухлини.

9. Питання про можливу участь вірусів в канцерогенезі, що викликається хімічними і фізичними чинниками, вимагає подальшого вивчення. Наявні дані дозволяють припустити наявність непрямого канцерогенезу.

Провірусна гіпотеза Г. Теміна з'явилася в 1964 р., коли повністю підтвердилося центральне положення молекулярної біології про те, що передача генетичної інформації йде по схемі ДНК→РНК→білок. Гіпотеза Г. Теміна вводила в цю схему принципово новий етап РНК→ДНК і таким чином пояснювала інтеграцію вірусного і клітинного геномів. Виявилось, що в природі існує і інший механізм передачі генетичної інформації: РНК→ДНК→РНК→білок. Цей процес обумовлений наявністю ферменту зворотної транскриптази (РНК-залежної ДНК-полімерази). Шість років знадобилося Г. Теміну для виявлення ферменту, що здійснює перенесення інформації з РНК до ДНК, який отримав назву зворотної транскриптази. Г. Теміну вдалося не тільки отримати фрагменти ДНК, комплементарні заданому ланцюгу РНК, але і довести, що ДНК-копія може вбудовуватися в ДНК клітин і передаватися потомству. Незалежно від нього Д. Балтімор (1970 р.) виявив такий же фермент. За це відкриття Г. Темін і Д. Балтімор були удостоєні Нобелівської премії.

Онкогени як специфічний генетичний матеріал, що кодує інформацію про певний білковий продукт, вперше були ідентифіковані у складі ретровірусів.

Механізм трансформуючої дії онкогенних вірусів

Вивчення молекулярних механізмів регуляторних процесів в клітинах, трансформованих або інфікованих онкогенними вірусами, є одним з важливих напрямів сучасної біології.

Інфекційна і неопластична дія вірусів на клітини принципово різна. У першому випадку нуклеїнова кислота вірусу індукуює гострий процес, руйнування клітин, в другому - вона інтегрується з клітинним геномом і стає невідмінною від власних клітинних генів, дуплікуючись і функціонуючи разом з ними. В результаті цих процесів нормальна клітина перетворюється на пухлинну, яка втрачає властивий нею контроль за власною проліферацією.

Вбудовування в клітинну ДНК є необхідною, але недостатньою властивістю онкогенних вірусів. Вони вносять до клітини якусь інформацію,

що перетворює клітину на пухлинну. Саме віруси вперше дозволили ідентифікувати, що ж трансформує клітину з нормальної в пухлинну.

Пухлинні віруси викликають пухлини не самі по собі, а вносячи до генетичного апарату клітини онкоген і закріплюючи його в геномі клітини. Якщо онкоген видалити з генетичного апарату вірусу, то вірус, не позбавляючись здатності розмножуватися і інтегрувати з геномом клітини, втратить здатність трансформувати клітини. У всіх нормальних клітин є гени, дуже близькі по структурі до вірусних онкогенів, - вони були названі протоонкогенами. Ці гени регулюють нормальну поведінку клітини - її відповіді на ростові чинники, на гормони, нормальний темп і "розклад" її ділень. Вони можуть підсилювати або зменшувати продукцію клітиною речовин, пов'язаних з її зростанням і диференціюванням, і відповідно викликають нестримне зростання і дисемінацію таких клітин, що характерне для злоякісних пухлин.

Основні причини перетворення протоонкогена в онкоген:

1. Точкові мутації в протоонкогені під дією фізичних і хімічних мутагенів.
2. Ампліфікація протоонкогена, в результаті якої кількість копій його зростає, як і кількість білка, що синтезується.
3. Потрапляння протоонкогена під контроль сильного промотора або в результаті інтеграції вірусу, або унаслідок транслокації блоку генів в хромосомі за допомогою транспозонів.
4. Пряма трансформуюча дія онкогенного вірусу, пов'язана з внесенням до клітини онкогена.

Злоякісність клітин залежить від мутації протоонкогенів і від змін у впливі на роботу генів з боку генетичного середовища в цілому, характерну для нормальної клітини. Така сучасна генна теорія раку.

Останніми роками знайдена ще одна найбільш загальна ланка канцерогенезу - гени-супресори пухлин (антионкогени), що пригнічують активність онкогенів.

Онкогенні віруси можуть містити ДНК або РНК (табл. 2).

Особливості імунної відповіді організму на пухлину

Ракова клітина несе на собі чужорідні вірусні білки або власні змінені білки. Доведена наявність обох форм імунної відповіді на ракову клітину: гуморальної з появою антитіл і клітинної з накопиченням Т-лімфоцитів-кілерів, сенситивізованих проти пухлинних клітин. Протипухлинні антитіла представлені класами IgM і IgG.

Величезну роль в протипухлинному захисті організму грають НК-клітини (від англ. natural killer, природні кілери), а також лімфоцити, що забезпечують антитілоопосередкований клітинами лізис: нульові, К-, Pit-, L-клітини. Як К-клітини можуть функціонувати поліморфноядерні лейко-

цити, макрофаги, моноцити, тромбоцити, моноклеарні клітини лімфоїдної тканини, позбавлені маркерів Т- і В-лімфоцити, Т-лімфоцити, що мають Fc-рецептори для IgM.

Таблиця 2

Класифікація онкогенних вірусів

Таксономічна категорія	Вид віруса	Тип уражень
Віруси, що містять ДНК		
Сімейство Herpesviridae	Вірус простого герпесу 1 і 2 типів	Рак шийки матки
Підсімейство Alpha-herpesvirinae		
Підсімейство Betaherpesvirinae	Цитомегаловірус	Онкогенна трансформація людських клітин in vitro
Підсімейство Gam-maherpesvirinae	Вірус Епштейна-Барр	Лімфома Беркитта, В-клітинна лімфома, назофарингеальна карцинома
	Вірус герпесу 6 типа	В-клітинна лімфома
	Вірус герпесу 8 типа	Саркома Капоши
Сімейство Hepadnaviridae	Вірус гепатита В	Гепатоцелюлярна карцинома
Сімейство Papovaviridae	Папіломавіруси	Бородавки, загострені канділоми, карцинома шийки матки, карцинома гортані
Сімейство Adenoviridae	Аденовіруси	Неідентифіковані пухлини гризунів при експериментальному зараженні, можливість викликати пухлини у людини не встановлена
Сімейство Poxviridae	Вірус віспи Тана, вірус контагіозного молюска, вірус віспи мавп Яба	Доброякісні, спонтанно регресуючі сполучно-тканинні пухлини у гризунів, пухлини у мавп; можливість викликати пухлини у людини не встановлена
Віруси, що містять РНК		
Сімейство Flaviviridae	Вірус гепатита С	Гепатоцелюлярна карцинома
Сімейство Retroviridae	Лімфотропні віруси людини HTLV-1, HTLV-2	Т-клітинний лейкоз, волохатоклітинний лейкоз

Імунодіагностика раку ґрунтується на:

- 1) індикації в крові ракових антигенів,
- 2) виявленні протипухлинних антитіл,
- 3) виявленні сенсibiliзованих до пухлинних антигенів лімфоцитів,
- 4) застосуванні ДНК-діагностики.

Імунотерапія і імунопрофілактика

Сучасне визначення імунотерапії, або біотерапії, запропоноване С. Розенбергом (1995 р.): «Біотерапія - це метод лікування раку шляхом активізації природних захисних механізмів або введення природних або штучно створених (полімерних і інших) сполук».

Ефект імунотерапії залежить від основних антигенних відмінностей пухлинних і нормальних клітин. Перевага імунотерапії полягає в можливості пригнічення проліферації пухлинних клітин без пригнічення проліферації нормальних.

Пошук методів імунотерапії пухлин йде за наступними напрямками:

1. Активна специфічна імунотерапія є спробою стимулювати імунну відповідь на антигени даної пухлини. При цьому методі використовуються вакцини, створені з пухлинних клітин або пухлинних антигенів.

2. Пасивна імунотерапія - системне введення специфічної донорської протипухлинної сироватки, моноклональних антитіл або лімфоцитів, що специфічно реагують проти пухлинних клітин, але не ушкоджують нормальні.

Імунотоксини - тумороспецифічні антитіла, зчеплені з токсичними молекулами. Як імунологічні носії цих речовин переважно застосовують моноклональні антитіла.

3. Адаптивна імунотерапія - введення в організм реципієнта лімфоїдних клітин, що володіють імунними властивостями. Ці імунні лімфоїдні клітини розпізнають пухлину і стають класичними цитолітичними Т-лімфоцитами.

Конкретні цілі:

1. Поняття “онкоген” і “антионкоген”.
2. Механізм трансформуючої дії онкогенних вірусів.
3. Класифікація, характеристика, властивості онкогенних вірусів, що містять ДНК. Пухлини, які вони викликають.
4. Класифікація, характеристика, властивості онкогенних вірусів, що містять РНК. Пухлини, які вони викликають.
5. Особливості протипухлинного імунітету. Причини неспроможності імунної відповіді на пухлину.
6. Методи лабораторної діагностики пухлин.
7. Перспективи імунотерапії і імунопрофілактики пухлин.

Уміти:

1. Класифікувати онкогенні віруси.
2. Пояснити основні постулати вірусо-генетичної теорії виникнення пухлин Л.А.Зільбера та сучасні уявлення про механізми вірусного канцерогенезу.
3. Формулювати особливості протипухлинного імунітету.
4. Розбирати схеми реплікації різних вірусів.
5. Аналізувати і оцінювати методи індикації вірусів.

Теоретичні питання:

1. Історія вивчення онкогенних вірусів. Вірусо-генетична теорія виникнення пухлин Л.А.Зільбера.

2. Класифікація онкогенних вірусів.
3. Сучасні уявлення про механізми вірусного канцерогенезу. Онкогени і антионкогени.
4. Особливості імунної відповіді організму на пухлину. Причини неефективності. Імунодіагностика пухлин. Пухлинні антигени.
5. Перспективи імунотерапії і імунoproфілактики пухлин.

Практичні завдання, що виконуються на занятті:

1. Вивчення механізмів вірусного канцерогенезу.
2. Вивчення особливостей протипухлинного імунітету.
3. Оформлення протоколу.

Література:

1. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / Под ред. А. А. Воробьева. – М. : ООО «Медицинское информационное агентство», 2006. – 704 с.
2. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / Под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова. – М. : ООО «Медицинское информационное агентство», 2003. – 236 с.
3. Поздеев О. К. Медицинская микробиология / О. К. Поздеев. – [под ред. В. И. Покровского] – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 765 с.

Додаткова література:

1. Букринская А. Г. Вирусология / А. Г. Букринская. – М. : Медицина, 1986. – 336 с.
2. Шувалова Е. П. Инфекционные болезни / Е. П. Шувалова. – [5-е изд., перераб. и доп.]. – М. : Медицина, 2001. – 642 с.

Короткі методичні вказівки до практичного заняття:

На початку заняття проводиться перевірка рівня підготовки студентів до заняття. Самостійна робота складається з вивчення механізму трансформуючої дії онкогенних вірусів, молекулярно-генетичної організації, класифікації вірусів, розбору схеми реплікації різних вірусів. До складу самостійної роботи входить також аналіз і оцінка методів індикації вірусів.

В кінці заняття проводиться тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. Вірусогенетична теорія Л.А. Зільбера включає твердження, окрім:
 - А. Природно виникаючі пухлини викликаються бактеріями.
 - В. Процес вірусного канцерогенезу не є інфекційним.
 - С. Онкогенні віруси не відрізняються від вірусів, що викликають інфекційні захворювання.
 - Д. Онкогенні віруси змінюють спадкові властивості клітин.
 - Е. Вірус - тільки носій чинника, який викликає пухлинну конверсію.
2. Фермент зворотна транскриптаза здійснює:

- A. Синтез ДНК на матриці РНК.
- C. Розщеплення молекули ДНК.
- E. Розщеплення молекули РНК.
- B. Синтез РНК на матриці ДНК.
- D. Подвоєння молекули ДНК.

3. Основними причинами перетворення протоонкогена в онкоген є нижчеперераховані, ОКРІМ:

- A. Точкові мутації в протоонкогені.
- C. Ампліфікація протоонкогена.
- D. Попадання протоонкогена під контроль сильного промотора.
- E. Пряма трансформуюча дія онкогенного вірусу.
- 4. В-клітинну лімфому можуть викликати:
- A. Вірус Епштейна-Барр.
- C. Вірно А і В.
- D. ПВЛ тип 1.
- E. Всі перераховані вище.
- 5. Імунодіагностика раку ґрунтується на наступних чинниках:
- A. Індикація в крові ракових антигенів.
- B. Виявлення протипухлинних антитіл.
- C. Виявлення сенсibiliзованих до пухлинних антигенів лімфоцитів.
- D. Застосування ДНК-діагностики.
- E. Все вищеперелічене.

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Перевірка рівня підготовки студентів до заняття: тести і опитування.
2. Вивчення механізму трансформуючої дії онкогенних вірусів, молекулярно-генетичної організації.
3. Вірусо-генетична теорія виникнення пухлин Л.А.Зільбера.
4. Класифікація вірусів.
5. Розбір схеми реплікації різних вірусів.
6. Аналіз і оцінка методів індикації вірусів.
7. Оформлення протоколу.

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДО ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ № 13

Тема: Ретровіруси. Вірус імунodefіциту людини.
Мета: Вивчення лабораторної діагностики ВІЛ-інфекції і СНІДу.

Модуль 3. Загальна і спеціальна вірусологія.

Змістовний модуль 16. Спеціальна вірусологія.

Тема 18. Ретровіруси. ВІЛ.

Актуальність теми. Перші ретровіруси були виявлені на початку ХХ ст. Елерманном, Бангом і Раусом, що встановили вірусну природу еритробластоза і саркоми курей.

Сімейство Retroviridae об'єднує близько 150 видів одонитчастих вірусів, що містять РНК та зворотно транскрибуються.

Ретровіруси мають унікальний шлях передачі генетичної інформації. Геном ретровірусів складається з двох ідентичних молекул РНК, тобто є диплоїдним. У складі ретровірусів є особливий вірусоспецифічний фермент - зворотна транскриптаза або ревертаза, за допомогою якої здійснюється процес зворотної транскрипції, тобто на матриці генома РНК синтезується комплементарна одонитчаста ДНК (кДНК). Комплементарна нитка ДНК копіюється з утворенням двунитчастої комплементарної ДНК, яка інтегрує в клітинний геном і в його складі транскрибується в іРНК. Синтез білків для цих вірусів здійснюється за схемою:

геном РНК віруса → комплементарна ДНК → транскрипція іРНК → транскрипція білка вірусу.

У самостійне сімейство вони були виділені лише в 1974 р. У латинському варіанті їх назви приставка *retro* (зворотний) позначає зворотну спрямованість потоку генетичної інформації (не від ДНК до РНК, а навпаки, від РНК до ДНК).

Таким чином, ретровіруси – це плюс-нитчасті диплоїдні віруси, що містять РНК та фермент зворотну транскриптазу, яка на матриці РНК вірусу синтезує мінус-нитку ДНК, з якої копіюється плюс-нитка ДНК з утворенням подвійної нитки ДНК.

Ретровіруси мають сферичну форму, розмір 80-130 нм. Віріон має суперкапсид і нуклеокапсидну серцевину, кубічний тип симетрії (капсид ікосаедральний). Типовою є наявність зворотної транскриптази (РНК-залежної ДНК-полімерази), пов'язаної з геномом, та одонитчастої плюс-РНК у вигляді комплексу з двох ідентичних субодиниць.

Віруси містять протеїни: груповий антиген (gag), полімеразний протеїн (pol) і білки оболонки (env).

Сімейство ретровірусів включає 7 родів:

1. Alpharetrovirus: віруси лейкоза, саркоми птахів, саркоми Рауса курей.
2. Betaretrovirus: вірус раку молочних залоз мишей, ендогенний ретровірус людини, вірус мавп Мезон-Пфайзера.
3. Gammaretrovirus: віруси саркоми и лейкемії мишей, котів, приматів.
4. Deltaretrovirus: вірус лейкемії крупного рогатого скота, лімфотропні віруси Т-клітин людини (HTLV-1, -2).
5. Epsilonretrovirus: вірус саркоми шкіри.
6. Spumavirinae: «пінячі» віруси мавп, бичий синцитіальний вірус.
7. Lentivirinae: вірус імунodefіциту людини, вірус Меді/Вісна.

Слід зазначити, що патогенністю для людини володіє обмежена група ретровірусів: Т-клітинні лімфотропні віруси людини (HTLV) HTLV-I (спричинює Т-клітинні лімфоми і мієлопатії) і HTLV-II (прямих доказів патогенної дії немає; виділяють при хронічних лімфолейкозах), ВІЛ-1 (спричинює ВІЛ-інфекцію) і ВІЛ-2 (близький до ВІЛ-1; також здатен викликати ВІЛ-інфекцію, зустрічається переважно в Західній Африці).

Вірус імунodefіциту людини

Синдром набутого імунodefіциту (СНІД), або AIDS (від англ. acquired immunodeficiency syndrome), - важке захворювання, що викликається вірусом імунodefіциту людини – ВІЛ, або HIV (від англ. human immunodeficiency virus), що вражає переважно імунну систему. Хвороба характеризується тривалим перебігом, поліморфністю клінічних проявів, високою летальністю, передається в природних умовах при статевих контактах, а також із кров'ю при медичних маніпуляціях, і здібна до швидкого епідемічного розповсюдження.

ВІЛ відкритий в 1983 р. американським ученим Р. Галло і французьким дослідником Л. Монтан'є одночасно і незалежно один від одного. Більшість дослідників схиляються до думки про африканське походження захворювання і його розповсюдження в США через країни Карибського басейну, оскільки ще на початку 70-х рр. у жителів деяких африканських країн виявляли АТ до ВІЛ. До теперішнього часу ідентифіковано два види ВІЛ. Перший превалює при клінічних формах СНІДу, спочатку виявлений в Центральній Африці, а пізніше і в інших регіонах. Другий переважно виділяють у Західній і Центральній Африці. ВІЛ-2 проявляє нижчу вірулентність. Після відкриття Галло вірус відносили до лімфотропних Т-клітинних ретровірусів; але пізніші дослідження виявили наявні істотні відмінності.

Таксономія. ВІЛ віднесений до сімейства Retroviridae, підродини Lentivirinae.

Морфологія і культивування. ВІЛ - порівняно просто влаштований вірус, що містить РНК, має сферичну форму, розмір близько 100 нм. Двущарова ліпідна оболонка пронизана глікопротеїдними антигенами gp120 і gp41 (домени gp160). Серцевина вірусу має конусовидну форму і складається з капсидних білків p24 і p25, матріксних білків, і білків протеаз. РНК - двохспіральна, для здійснення процесу репродукції ВІЛ має зворотну транскриптазу або ревертазу (вона ж РНК-залежна ДНК-полімераза). Вірус дуже важко культивується в штучних умовах, розмножується тільки в культурах лімфоцитів, накопичення невисоке.

Стадії взаємодії ВІЛ з клітиною-мішенню:

1. Адгезія віріона до поверхні клітини.
2. Злиття мембрани вірусу і клітини. Проникнення вірусу.
3. Вивільнення нуклеотида і геному РНК-вірусу.
4. Синтез провірусної ДНК на матриці генома РНК-вірусу.
5. Інтеграція генома провіруса в геном клітини.
6. Латентний період, в перебігу якого ДНК-провіруса інтегрована в геном.
7. Активація процесу транскрипції з ДНК провіруса, трансляція білків вірусу.
8. Активна реплікація вірусу, тобто продукція всіх компонентів вірусу і формування з них зрілих дочірніх віріонів.
9. Вивільнення віріонів і окремих білків ВІЛ з клітини господаря в зовнішнє середовище і безперешкодне зараження інших клітин. Цитопатогенні інфекції ВІЛ.

Антигенна структура. ВІЛ має ряд поверхневих (gp160, gp120, gp41) і серцевинних (p24, p18 і ін.) антигенів, що визначають його серологічні властивості. В даний час виділяють два антигенні різновиди вірусу: ВІЛ-1 і ВІЛ-2. Основні антигени викликають утворення антитіл у інфікованих людей; спочатку з'являються антитіла до gp120, gp41, потім p24, які тривало зберігаються в крові.

ВІЛ володіє унікальною антигенною мінливістю, яка в сотні і тисячі разів перевершує мінливість вірусу грипу, завдяки тому, що швидкість його транскрипції значно вища, ніж у інших вірусів. Це утрудняє діагностику і специфічну профілактику ВІЛ-інфекції.

Чинники патогенності. ВІЛ володіє лімотропністю завдяки тому, що на лімфоцитах Т-хелперах існують в нормі рецептори CD-4, що мають спорідненість до білка gp120 вірусу. Це створює сприятливі умови для прикріплення вірусу до лімфоцитів, проникнення їх в клітину і подальшого розмноження в лімфоциті. В результаті розмноження ВІЛ в лімфоцитах останні руйнуються і гинуть або знижують свою функціональну активність. Проте ВІЛ вражає не тільки Т4-лімфоцити, але і інші клітини (нер-

вові, В-лімфоцити, макрофаги, клітини Лангерганса), які мають рецептори типу CD4, як у Т-лімфоцитів. Ураження імунних і інших клітин призводить до зниження захисних функцій імунної системи, розвитку імунodefіцитного стану і прояву в результаті цього вторинних захворювань інфекційної і неінфекційної природи.

Культивування. Культивується ВІЛ на культурі клітин Т-лімфоцитів і моноцитів людини, але для цього потрібна присутність інтерлейкіна-2 (ІЛ-2).

Резистентність. ВІЛ порівняно малостійкий в навколишньому середовищі, а також до фізичних і хімічних чинників. При кімнатній температурі зберігається до 4 діб; через 5-10 хв інактивується після обробки спиртом, ефіром, гіпохлоритом, швидко гине при дії миючих засобів; згубна сонячна радіація, штучне УФ випромінювання, іонізуюча радіація. Кип'ячення швидко вбиває вірус, прогрівання до 80 °С знешкоджує його протягом 6-7 хв, а до 60 °С - протягом 30 хв. Є дані, що ВІЛ втрачає активність при дії ферментів слини і поту. Проте вірус може тривало (до 2 тижнів) зберігатися у висушеному стані, у висушій крові, а в донорській крові може зберігатися роками.

Сприйнятливість тварин. До ВІЛ чутлива тільки людина; окремі прояви ВІЛ-інфекції можна викликати лише у мавп шимпанзе, у яких, проте, симптоматика СНІДу не розвивається.

Епідеміологія. ВІЛ-інфекція вперше зареєстрована в 1980-1981 рр. в США серед гомосексуалістів, потім серед осіб, страждаючих на гемофілію, яким для лікування часто проводять переливання крові, а згодом серед наркоманів і повій. Джерелом інфекції є тільки хвора людина і носій ВІЛ. Зараження відбувається при статевому контакті і парентеральному введенні ВІЛ-інфікованих матеріалів (кров, сироватка, плазма, препарати крові), а також використанні нестерильних інструментів і приладів, забруднених кров'ю хворих (шприци, голки, системи для переливання крові і т. д.). Можливе внутрішньоутробне інфікування плоду, а також інфікування дитини через молоко ВІЛ-інфікованої матері. При побутових контактах і через кровосалних комах вірус не передається.

ВІЛ-інфекція поширена на всіх континентах в переважній більшості країн, особливо в Америці, Африці і Європі. Епідемія ВІЛ-інфекції стрімко розповсюджується; число хворих подвоюється через кожні 8-10 міс і за 15 років досягло декількох мільйонів при 20 млн носіїв. ВІЛ-інфекція віднесена до кризових інфекцій, загрозливих існуванню людства, тому ВООЗ розробила заходи по обмеженню її розповсюдження. Прийнятий закон по боротьбі з ВІЛ-інфекцією і в Україні.

Вірус потрапляє в кров при статевих контактах (особливо збочених) або вказаних вище медичних маніпуляціях, проникає в клітини, розмно-

жується в них, виходить з клітин і розповсюджується по всьому організму. Його можна виявити в крові, лімфі, слині, слюзах, спермі, виділеннях піхви, шкірі і інших рідинах і клітинах.

Патогенез. Проникаючи в кровеносне русло, ВІЛ інфікує Т-хелпери і інші клітини на поверхні яких в нормі існують рецептори CD4, що мають спорідненість до білка gp120 ВІЛ.

Вірус прикріплюється до Т-лімфоцита, проникає шляхом ендоцитоза і репродукується в лімфоциті. В результаті розмноження ВІЛ в лімфоцитах останні руйнуються і втрачають свої функціональні властивості.

ВІЛ інфікує також моноцити, макрофаги, В-лімфоцити, клітини Лангерганса, дентритні нервові клітини та інші, які мають рецептори CD4 як у Т-лімфоцитів.

В результаті розмноження вірусу в різних клітинах відбувається накопичення його в органах і тканинах, і він виявляється в крові, лімфі, слині, спермі, слюзах, сечі, поті, калових масах, вмісті уrogenітального тракту, грудному молоці, в гної при запальних процесах.

При ВІЛ-інфекції знижується число Т4-лімфоцитів, а також відношення Т4/Т8, порушується функція В-лімфоцитів, знижується і порушується продукція комплементу, інтерлейкінів, інтерферону, внаслідок чого настає дисфункція імунної системи і розлад її діяльності. Унаслідок поліклональної активації В-лімфоцитів вірусом можливе підвищення рівня імуноглобулінів. В результаті імунодепресії, пригнічення клітинної і гуморальної ланки імунітету організм стає беззахисним проти екзогенних (бактерії, віруси, гриби, найпростіші) і ендогенних (пухлини і інші клітини) антигенів. Цей механізм лежить в основі виникнення вторинних хвороб і клінічних проявів ВІЛ-інфекції.

Клініка. ВІЛ-інфекція, за акад. В. І. Покровським (1989), характеризується декількома стадіями:

I. Стадія інкубації.

Встановлено, що інкубаційний період (від моменту інфікування до перших клінічних проявів або сероконверсії) продовжується від 2-3 тиж до 1-2 міс, а за деякими даними і до 3-5 років.

II. Стадія первинних проявів:

А - гостра гарячкова фаза;

Б - безсимптомна фаза;

В - персистуюча генералізована лімфаденопатія.

Проте в крові визначаються ВІЛ-антитіла. Ця стадія може тривати роками (10-15 років). У цей період захисні системи організму стримують репродукцію збудника.

III. Стадія вторинних захворювань:

А - втрата маси тіла менше 10 %; поверхневі грибкові, вірусні, бактерійні ураження шкіри і слизових оболонок; оперізувальний лишай; повторні фарингіти, синусити;

Б - прогресуюча втрата маси тіла більше 10 %; нез'ясовна діарея або лихоманка більше 1 міс; волохата лейкоплакія; туберкульоз легенів; повторні або стійкі бактерійні, вірусні, грибкові, протозойні ураження внутрішніх органів (без дисемінації) або глибокі ураження шкіри і слизових оболонок; повторний або дисемінований оперізувальний лишай; локалізована саркома Капоши;

В - генералізовані бактерійні, вірусні, грибкові, протозойні, паразитарні захворювання; пневмоцистна пневмонія; кандидоз стравоходу; позалеґеневий і атиповий туберкульоз; хакексія; дисемінована саркома Капоши; ураження ЦНС різної етіології.

IV. Термінальна стадія: розвиваються хакексія (різке зменшення маси тіла), адинамія, деменція (недоумство) і інші явища при зниженні всіх імунологічних показників.

Вважають, що тільки термінальну стадію можна відносити до власне СНІДу, всі попередні слід трактувати як ВІЛ-інфекцію.

Летальність при СНІДі досягає 100 %.

Для людей, уражених ВІЛ-інфекцією, характерні 3 групи захворювань - опортуністичні інфекції, пухлинні хвороби і ураження ЦНС.

Середня тривалість життя інфікованої людини приблизно 7-15 років.

Імунітет. Імунітет носить гуморальний і клітинний характер. Роль антитіл недостатньо з'ясована.

Лабораторна діагностика. Вірусологічна і серологічна діагностика зводиться до визначення в рідинах і тканинах організму (сироватка крові, лімфоцити, макрофаги, сперма, слина, вміст піхви і ін.) вірусу або його антигенів, а також антитіл до ВІЛ в сироватці крові. Вірус виділяють в культурі клітин лімфоцитів, що досить важко в звичайних умовах. Антитіла до ВІЛ визначають в основному за допомогою ІФА, підтверджуючи позитивні результати, використовуючи метод імуноблотинга.

Наявність ВІЛ в крові можна виявити в різні терміни, зазвичай одночасно з появою білка р24. Розчинний р24 антиген може бути виявлений в кровотоку не раніше, ніж через 5-10 діб після зараження. Вірусемія досягає піку до 10-20 доби після зараження і триває до появи специфічних антитіл. У крові хворого з'являються віруснейтралізуючі антитіла проти gp120 і gp41, р24. ВІЛ антитіла з'являються через 2-4 тижні після інфікування і визначаються на всіх стадіях ВІЛ-інфекції і при СНІДі.

В даний час найбільш чутливими і специфічними визнані ІФА і метод вестернблота.

Виявити ВІЛ-інфекцію, тобто вірус, в інкубаційному і ранньому клінічному періоді можна за допомогою ПІР.

За допомогою ІФА визначають антитіла до білків gp41, gp120, p24.

У зв'язку з тим, що gp120 має структурну і антигенну схожість із рецепторами деяких клітин людини, в організмі можуть з'являтися антитіла, споріднені антитілам проти gp120. В цьому випадку можуть бути хибно-позитивні результати ІФА. Тому всі позитивно реагуючі сироватки досліджуваних піддаються додатковому аналізу за допомогою методу імуноблотинга або вестернблотинга. У основі цього методу лежить ідентифікація досліджуваних антитіл після електрофоретичного розділення їх і подальшого тестування за допомогою мічених антивидових антитіл. Метод вестернблот дозволяє виявити специфічні антитіла в сироватці до p24, gp41 або gp120.

Клінічний і серологічний діагнози підтверджуються імунологічними дослідженнями, якщо вони указують на наявність імунодефіциту у обстеженого пацієнта.

Лікування. Лікування пригнічує реплікацію вірусу в клітині.

Препарати, використовувані для лікування ВІЛ-інфікованих пацієнтів, розділені згідно їх дії на різні стадії реплікації ВІЛ:

1. Препарати, що інгібують зворотну транскриптазу: азидотимідін, ставудін.

Лікування азидотимідіном продовжує життя хворим на ВІЛ-інфекцію в середньому на 1,5-2 роки. Фосфазід - вітчизняний препарат, ефективніший і менш токсичний, чим азидотимідін.

2. Препарати, що інгібують протеази: саквіновір, рітонавір і ін.

Основна перспектива їх терапевтичного використання - сумісне застосування з інгібіторами зворотної транскриптази.

3. Комбінована терапія: інгібіторами зворотної транскриптази і інгібіторами протеаз.

Профілактика. Специфічна профілактика не розроблена.

Протягом тривалого часу робляться спроби розробити вакцину проти ВІЛ, проте надійної і безпечної вакцини проти ВІЛ не існує. Створені вакцини на основі методів генної інженерії. Рішення питання про ефективність цих вакцин вимагає значного часу.

Основні заходи боротьби зводяться до припинення можливостей інфікування при статевих контактах (механічні способи захисту), боротьбі з проституцією, наркоманією і гомосексуалізмом; виключення умов передачі ВІЛ при медичних маніпуляціях (одноразові шприци, голки, системи для переливання крові, перевірка донорів і препаратів крові на ВІЛ і т. д.); санітарно-освітньої роботи. З метою обмеження розповсюдження ВІЛ-інфекції Міністерством охорони здоров'я затверджені відповідні правила

медичного огляду на виявлення зараження вірусом імунodefіциту людини, що регламентують комплекс профілактичних заходів щодо боротьби з цією надзвичайно небезпечною хворобою.

Конкретні цілі:

1. Знати епідеміологічну ситуацію на захворюваність ВІЛ в Україні.
2. Знати класифікацію ретровірусів і патогенних для людини представників роду *Lentivirus*.
3. Пояснити, чому віруси називаються ретровірусами.
4. Вивчити шляхи передачі ВІЛ-інфекції і її патогенез.
5. Ознайомитися з методами лабораторної діагностики і навчитися трактувати результати дослідження.
6. Вивчити препарати для лікування ВІЛ-інфекції.

Уміти:

1. Проводити відбір матеріалу для лабораторних досліджень відповідно до стадії захворювання ВІЛ/СНІД.
2. Правильно оцінювати результати методів лабораторної діагностики і робити висновки.

Теоретичні питання:

1. Класифікація ретровірусів.
2. Особливості будови ВІЛ. Антигенна структура.
3. Групи ризику, шляхи зараження і патогенез ВІЛ-інфекції.
4. Клітини-мішені ВІЛ, механізм імуносупресивної дії ВІЛ.
5. Стадії ВІЛ-інфекції. ВІЛ-асоційовані інфекції.
6. Особливості імунітету.
7. Лабораторна діагностика ВІЛ-інфекції і СНІДу.
8. Перспективи імунoproфілактики ВІЛ-інфекції.
9. Етіотропна терапія, механізм дії антиретровірусних препаратів.

Практичні завдання, що виконуються на занятті:

1. Зарисовка в протокол структури ВІЛ.
2. Вивчення по таблиці методу ІФА.
3. Ознайомлення з лабораторією і апаратурою для постановки ІФА.
4. Оформлення протоколу.

Література:

1. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / Под ред. А. А. Воробьева. – М. : ООО «Медицинское информационное агенство», 2006. – 704 с.
2. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / Под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова. – М. : ООО «Медицинское информационное агенство», 2003. – 236 с.
3. Поздеев О. К. Медицинская микробиология / О. К. Поздеев. – [под ред. В. И. Покровского] – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 765 с.

Додаткова література:

1. Букринская А. Г. Вирусология / А. Г. Букринская. – М. : Медицина, 1986. – 336 с.

2. Шувалова Е. П. Инфекционные болезни / Е. П. Шувалова. – [5-е изд., перераб. и доп.]. – М. : Медицина, 2001. – 642 с.

Короткі методичні вказівки до практичного заняття:

На початку заняття проводиться перевірка рівня знань студентів по темі.

Самостійна робота складається з вивчення структури вірусу по малюнках, слайдах і зарисовки її в протокол. Далі студенти знайомляться з лабораторією і апаратурою для ІФА, по таблицях вивчають імуноферментний метод діагностики.

В кінці заняття проводиться тестовий контроль і аналіз результатів самостійної роботи кожного студента.

Цільові навчальні завдання:

1. При проведенні ІФА у пацієнтки виявлена позитивна проба на ВІЛ. Які наступні кроки повинен зробити лікар відносно цієї жінки?

- A. Приступити до лікування азидотимідом.
- B. Провести обстеження контактних на наявність антитіл до ВІЛ.
- C. Застосувати вестернблот (імуноблот).
- D. Виділити культуру вірусу.
- E. Визначити співвідношення Т4/Т8 лімфоцитів.

2. Розроблено декілька серологічних методів для виявлення антитіл у ВІЛ-інфікованих людей, зокрема ІФА і вестернблот. Вестернблот по відношенню до ІФА є:

- A. Більш чутливий і більш специфічний.
- B. Менш чутливий і менш специфічний.
- C. Більш чутливий, але менш специфічний.
- D. Менш чутливий і більш специфічний.
- E. Однаково чутливий і специфічний.

3. Відомо, що 80 % дітей хворих на ВІЛ/СНІД гинуть від пневмоній. Який з перерахованих нижче збудників найчастіше є причиною таких пневмоній?

- A. S. pneumoniae.
- B. Pneumocystis carinii.
- C. K. pneumoniae.
- D. Chlamydomphila pneumoniae.
- E. M. pneumoniae.

4. Препарати, використовувані для лікування ВІЛ-інфікованих пацієнтів, розділені згідно їх дії на різні стадії реплікації ВІЛ. Який механізм дії групи препаратів, в яку входять саквіновір, рітонавір і ін.?

- A. Інгібують зворотну транскриптазу.
- B. Інгібують протеази.

- С. Інгібують вихід вірусу з клітини.
 - Д. Інгібують синтез білка.
 - Е. Інгібують збірку і дозрівання дочірніх популяцій.
5. При лабораторному дослідженні сироватки крові у пацієнта виявлені антитіла до ВІЛ за допомогою імуноферментного аналізу. Який специфічний метод дослідження дозволить підтвердити діагноз "ВІЛ-інфекція" у даного хворого?
- А. Імунолюмінісцентне дослідження.
 - В. Дослідження сироватки крові в реакції імуноблотинга.
 - С. Поглиблене імунологічне обстеження.
 - Д. Дослідження сироватки крові в реакції імунодифузії.
 - Е. Електронно-мікроскопічне дослідження клітин крові.
6. ВІЛ-інфікований пацієнт періодично обстежується з метою виявлення ознак активізації процесу. Назвіть ознаку, яка указує на перехід ВІЛ-інфекції в СНІД.
- А. Зниження кількості нейтрофілів.
 - В. Зниження кількості Т-хелперів.
 - С. Саркома Капоши. Кількість Т-хелперів нижче 200 кл/мкл.
 - Д. Кількість Т-хелперів нижча за критичний рівень.
 - Е. Виявлення антитіл до gp41.
13. У хворого 25 років з численних шкірних пустул висівається золотистий стафілокок в асоціації з епідермальним стафілококом. У аналізі мокроти виявлена пневмоциста карінії, у випорожненнях - криптоспоридії, вульгарний протей і гриби роду кандіда. При якому захворюванні зустрічається таке множинне інфікування умовно-патогенними мікроорганізмами?
- А. Сепсис.
 - В. Медикаментозний агранулоцитоз.
 - С. СНІД.
 - Д. Дисбактеріоз.
 - Е. Сахарний діабет.
14. У хворого з лихоманкою неясної етіології, імунодефіцитним станом, ураженням нервової і травної систем орієнтовно діагностований СНІД. Які методи діагностики необхідно використовувати для підтвердження діагнозу?
- А. Реакцію зв'язування комплекменту.
 - В. Імуноферментний аналіз, імуноблотинг.
 - С. Реакцію аглютинації.
 - Д. Реакцію гемадсорбції.
 - Е. Реакцію гемаглютинації.

15. У спеціалізованій клініці пацієнтові призначили комбінацію препаратів, які інгібують репродукцію ВІЛ. Вкажіть, до якої групи належать препарати, які обов'язково входять в комплексне противірусне лікування.

- A. Інтерлейкіни.
- B. Антибіотики широкого спектру дії.
- C. Аналоги нуклеозидів.
- D. Кріксиван.
- E. Бісептол.

16. З метою діагностики ВІЛ-інфекції досліджують сироватку крові для виявлення специфічних антигенів методом твердофазного імуноферментного аналізу. Які ензиммічені антитіла при цьому використовують?

- A. Проти білка gp14.
- B. Проти білка p24.
- C. Проти білка gp120.
- D. Проти білка gp17.
- E. Проти імуноглобулінів людини.

17. Вірус імунодефіциту людини, маючи на своїй поверхні антигени gp41 і gp120, взаємодіє з клітинами-мішенями організму. Виберіть серед названих антигени лімфоцитів людини, з якими комплементарно зв'язується gp120 вірусу.

- A. CD4. B. CD3. C. CD8. D. CD19. E. CD28.

Алгоритм лабораторної роботи:

1. Перевірка рівня підготовки студентів до заняття: тести і опитування.
2. Вивчення класифікації ретровірусів.
3. Вивчення схеми будови вірусу імунодефіциту людини.
4. Вивчення препаратів для антиретровірусної терапії.
5. Вивчення схеми лабораторної діагностики ВІЛ-інфекції і СНІДу.
6. Вивчення механізму реакції імуноблотинга.
7. Оформлення протоколу.

Навчальне видання

**МОДУЛЬ 3.
ЗАГАЛЬНА ТА СПЕЦІАЛЬНА ВІРУСОЛОГІЯ**

*Методичні вказівки для студентів
II та III курсів медичних факультетів*

Упорядники Циганенко Анатолій Якович
Мінухін Валерій Володимирович
Павленко Неоніла Володимирівна
Габишева Людмила Степанівна
Ткаченко Вікторія Леонідівна
Коваленко Наталя Іллівна
Мішина Марина Мітрофанівна
Дністрянська Людмила Іванівна
Мозгова Юлія Анатолівна
Конь Катерина Володимирівна
Краснікова Лариса Володимирівна

Відповідальний за випуск Конь К.В.

Редактор
Комп'ютерна верстка

Підп. до друку. . . Формат А5. Папір друк. Ризографія.
Ум. друк. л. 7,75 . Тираж 100 прим. Зак. №.....

**Пр. Леніна, 4, м. Харків, ХНМУ, 61022
Редакційно-видавничий відділ**

Свідцтво про занесення суб'єкта видавничої справи до Державного реєстру видавників,
виготовників та поширювачів видавничої продукції серії ДК № 3242 від. 18.07.2008 р.